

SÉRIE A. n° 1245
N° D'ORDRE : 2114

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Albert GUILLAUME

Pharmacien supérieur
Licencié ès Sciences

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE BIOLOGIQUE DES ALCALOÏDES :
RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LE LUPIN.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

soutenues le 27 1930 1930, devant la Commission d'examen

Président : M. M. MOLLIARD.

Examineurs : { MM. P. PORTIER.
M. JAVILLIER.

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
JOUVE & C^{ie}. ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1930

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Albert GUILLAUME

Pharmacien supérieur
Licencié ès Sciences

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE BIOLOGIQUE DES ALCALOÏDES :
RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LE LUPIN.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

soutenues le

1930, devant la Commission d'examen

Président : M. M. MOLLIARD.

Examineurs : { MM. P. PORTIER
M. JAVILLIER.

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1930

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen Ch. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.

Doyens honoraires . . . P. APPELL, M. MOLLIARD.

Professeurs honoraires.

A. JOANNIS.
H. LE CHATELIER.
H. LEBESGUE.
A. FERNBACH.
A. LEDUC.
E. HÉROUARD.

ÉMILE PICARD Analyse supérieure et algèbre supérieure.
G. KOENIGS Mécanique physique et expérimentale.
E. GOURSAT Calcul différentiel et calcul intégral.
P. JANET Electrotechnique générale.
F. WALLERANT Minéralogie.
P. PAINLEVÉ Mécanique analytique et mécanique céleste.
Gabriel BERTRAND Chimie biologique.
M^{me} P. CURIE Physique générale et radioactivité.
M. CAULLERY Zoologie (Évolution des êtres organisés).
G. URBAIN Chimie générale.
Émile BOREL Calcul des probabilités et Physique mathém.
L. MARCHIS Aviation.
Jean PERRIN Chimie physique
Rémy PERRIER Zoologie (Enseignement P.C.N.).
H. ABRAHAM Physique.
M. MOLLIARD Physiologie végétale.
E. CARTAN Géométrie supérieure.
L. LAPICQUE Physiologie générale.
E. VESSIOT Théorie des fonctions et théorie des transformations.

Professeurs

A. COTTON Physique générale.
J. DRACH Application de l'analyse à la géométrie.
Charles FABRY Physique.
Charles PÉREZ Zoologie.
Léon BERTRAND Géologie structurale et géologie appliquée.
R. LESPIEAU Théories chimiques.
E. RABAUD Biologie expérimentale.
P. PORTIER Physiologie comparée.
E. BLAISE Chimie organique.
P.-A. DANGEARD Botanique.
Paul MONTEL Mécanique rationnelle.
P. WINTREBERT Anatomie et Histologie comparées.
O. DUBOSQ Biologie maritime.
G. JULIA Mathématiques générales.
A. MAILHE Étude des combustibles.
L. LUTAUD Géographie physique et géologie dynamique.
Eugène BLOCH Physique théorique et physique céleste.
Henri VILLAT Mécanique des fluides et applications.
Ch. JACOB Géologie.
P. PASCAL Chimie minérale.
Léon BRILLOUIN Théories physiques.
V. AUGER Chimie appliquée.
E. ESCLANGON Astronomie.



E. PÉCHARD Chimie (Ens^t P.C.N.).
M. GUICHARD Chimie minérale.
A. GUILLET Physique.
C. MAUGUIN Minéralogie.
L. BLARINGHEM Botanique.
A. MICHEL-LÉVY Pétrographie.
A. DEREIMS Géologie.
A. DENJOY Calcul diff^{er} et intég^{al}.
H. BÉNARD Physique (P.C.N.).
E. DARMOIS Physique.
C. BRUHAT Physique.
H. MOUTON Chimie physique.

L. JOLEAUD Paléontologie.
M. JAVILLIER Chimie biologique.
A. DUFOUR Physique (P.C.N.).
F. PICARD Zoologie (Évolution des êtres organisés).
ROBERT-LÉVY Zoologie.
L. DUNOYER Optique appliquée.
A. GUILLIERMOND Botanique (P.C.N.).
A. DEBIERNE Radioactivité.
M. FRÉCHET Calcul des Probabilités et Physique mathém.

Secrétaire A. PACAUD.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE BIOLOGIQUE
DES ALCALOÏDES
RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LE LUPIN

INTRODUCTION

Pendant longtemps, les alcaloïdes retirés des plantes ont été étudiés uniquement au point de vue de leur utilité pour l'homme c'est-à-dire de leurs applications thérapeutiques. Encore actuellement cette étude présente un grand intérêt pratique : la meilleure méthode d'extraction d'un alcaloïde, la détermination précise de son action physiologique constituent des sujets de travaux variés pour les pharmacologues.

Mais, depuis que le nombre des alcaloïdes végétaux appartenant à des familles botaniques variées s'est élevé considérablement, un problème nouveau s'est posé qui, sans avoir un intérêt pratique immédiat, présente scientifiquement une grande importance théorique c'est celui de l'étude *biologique* des alcaloïdes, de leur signification par rapport à la plante qui les contient, question de chimie végétale d'autant plus captivante qu'elle s'adresse à des corps considérés comme les principes actifs de beaucoup de plantes.

Déjà un grand nombre de recherches dans ce sens ont été faites que GORIS¹ a su grouper dans un magnifique travail publié en 1914 et dont nous nous sommes largement servi pour la mise au point de la question. Depuis cette époque des études variées ont été effectuées sur la biologie des alcaloïdes tant en France qu'à l'étranger. Nous en avons tenu compte dans l'exposé de notre travail.

Nous avons voulu à notre tour, connaissant ce qui avait été fait, aborder l'étude biologique des alcaloïdes et nous avons choisi comme plante d'expériences le *lupin* : 1° parce que c'est

une plante facile à cultiver et à travailler ; 2° parce qu'elle renferme un alcaloïde à noyau pyridique : la spartéine et que les expériences de variations quantitatives et de migrations des alcaloïdes ont été faites pour la plupart jusqu'alors sur des plantes à caféine, c'est à-dire à noyau purique, beaucoup moins intéressantes à envisager physiologiquement que celles sur des végétaux renfermant des alcaloïdes à noyaux pyridiques.

Notre étude biologique des alcaloïdes a donc été précédée de travaux préliminaires : 1° sur le lupin, sa culture, sa composition chimique². La culture de cette légumineuse est très développée surtout en Allemagne où, déjà depuis longtemps, le lupin couvre de vastes terrains et rend de grands services à l'agriculture. L'étude chimique des alcaloïdes de cette plante a été faite aussi en Allemagne par de nombreux auteurs et il résulte de l'ensemble de leurs recherches que les lupins renferment à la fois des alcaloïdes cristallisables et fixes : la lupinine, la lupanine et un alcaloïde liquide et volatil : la lupinidine que WILLSTÄTER et ses collaborateurs identifièrent avec la spartéine du genêt.

Les proportions relatives des alcaloïdes liquides et cristallisables ont été établies et, dans certaines espèces exemple : *Lupinus luteus*, *L. mutabilis*, la lupinidine constitue la plus grande partie des alcaloïdes totaux ; 2° Nous avons pris spécialement le *Lupinus mutabilis* pour effectuer nos expériences, car nous avons reconnu par des essais préalables² que c'était l'espèce qui titrait la plus forte proportion d'alcaloïdes : 1 % dans les graines alors que la plupart des autres espèces annuelles de lupins : *L. luteus*, *albus*, *varius*, ne renferment que des doses beaucoup plus faibles.

1° Les travaux entrepris sur la *biologie des alcaloïdes*, c'est-à-dire dans le but de connaître leurs rapports avec les végétaux producteurs, et que certains auteurs désignent actuellement sous le nom d'*histoire physiologique* de ces substances, peuvent être envisagés à deux points de vue différents qui paraissent se compléter :

1. Le point de vue *statique*, l'étude, par les méthodes micro-chimiques de localisation, des variations éprouvées par les alcaloïdes dans les tissus végétaux au cours du développement normal et sous l'action de divers facteurs, et qui a donné lieu à de nombreuses recherches depuis près d'un demi siècle ;

2. Le point de vue *dynamique*, qui est surtout expérimental et comporte l'emploi de méthodes d'analyse chimique quantitative, comprend les trois parties principales suivantes :

1) Tout d'abord, l'étude du mécanisme biochimique de l'apparition des alcaloïdes dans la plante, c'est-à-dire leur *mode de formation* : hypothèses proposées, expériences pour les contrôler ;

2) Puis l'étude des *variations quantitatives des alcaloïdes* et de leurs *migrations* dans des conditions moyennes ou dans des conditions particulières, sous l'action de différents facteurs ; le mécanisme biochimique de leur disparition ;

3) Enfin, l'étude de l'action qu'exercent les alcaloïdes sur les végétaux, quand on tente de les faire absorber par eux, c'est-à-dire l'étude de la *nutrition des plantes avec les alcaloïdes*.

Dans la 1^{re} partie de notre étude, nous exposons aussi brièvement qu'il est possible de le faire les principaux travaux effectués sur le sujet en insistant sur les expériences qui nous ont paru les plus intéressantes.

Dans la 2^e partie, nous donnons nos recherches personnelles sur le lupin : le principe qui nous a guidé dans chacune de nos expériences, la technique opératoire, les résultats obtenus et leur interprétation.

En somme dans notre travail, nous avons visé deux buts :

1. Faire une mise au point aussi soignée et aussi consciencieuse que possible des recherches entreprises jusqu'alors sur la biologie des alcaloïdes ;

2. Par des expériences personnelles, apporter notre modeste contribution à l'étude biologique de ces substances.

2^o La plupart des auteurs : physiologistes, chimistes, qui ont entrepris des recherches dans une voie quelconque sur les alca-

loïdes dans leurs rapports avec les végétaux producteurs, ont essayé de tirer des résultats expérimentaux qu'ils obtenaient, des renseignements relatifs au rôle joué par ces composés dans l'organisme des plantes : ainsi, dans les conclusions de beaucoup de travaux sur la localisation microchimique ou sur les dosages dans les divers organes des plantes ou sur l'action exercée par les alcaloïdes sur les végétaux, on trouve des hypothèses émises sur le rôle physiologique des alcaloïdes étudiés (1).

Malgré le nombre très grand de travaux effectués sur la biologie de ces principes actifs, la question du rôle de ces substances n'est pas encore résolue ainsi que nous le constaterons dans un chapitre spécial sur le rôle des alcaloïdes (2), et les physiologistes dissertent encore sur les hypothèses plus ou moins bien étayées par les faits.

Nous devons dire, dès le début, que nos recherches sur la biologie des alcaloïdes n'ont pas eu pour but de fournir des preuves en faveur de l'une ou de l'autre des hypothèses en présence sur la signification physiologique de ces corps. Nous avons essayé simplement de suivre les alcaloïdes dans l'organisme végétal, à des périodes déterminées du développement de la plante et dans des conditions variées. D'ailleurs, il est possible qu'un même alcaloïde joue un rôle différent suivant l'organe considéré, suivant l'âge de la plante : il ne faut donc pas voir en lui simplement un déchet de l'activité cellulaire ou une substance de réserve. La question paraît moins simple. Quand il y a diminution ou disparition de l'alcaloïde, on peut soupçonner l'utilisation de la substance, mais encore est-il que des résultats expérimentaux doivent nous renseigner sur le sort de la substance disparue.

1. Nous verrons plus loin ce qu'il faut penser actuellement de ces conceptions finalistes et comment le problème de la biologie des alcaloïdes doit être compris à l'heure actuelle au point de vue physiologique.

*. Qui terminera notre I^{re} partie.

Qu'il nous soit permis d'adresser ici très sincèrement nos remerciements à notre Président de thèse, M. le Professeur M. MOLLIARD, pour la grande bienveillance qu'il n'a cessé de nous témoigner au cours de ces six années d'études.

Notre gratitude s'adresse également à M. le professeur M. JAVILLIER, à M. le Professeur A. GORIS pour les nombreux conseils et suggestions qu'ils nous ont donnés depuis 1923.

A la mémoire de notre regretté maître M. le Professeur agrégé A. VALEUR dont nous avons été l'interne durant quatre années et qui nous a guidé au début de ces recherches, nous adressons l'hommage ému de notre vive reconnaissance.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

PLAN GÉNÉRAL

	Pages
INTRODUCTION	3

PREMIERE PARTIE

LES TRAVAUX ANTÉRIEURS SUR L'ÉTUDE BIOLOGIQUE DES ALCALOÏDES ;
résumé et mise au point ;

CHAPITRE PREMIER. — <i>Etude statique de localisation microchimique ; Etude dynamique</i>	13
CHAPITRE II. — <i>Aperçu général sur leur constitution chimique : les grandes familles chimiques d'alcaloïdes</i>	18
<i>Mécanisme biologique de leur formation : hypothèses et expériences</i>	19
CHAPITRE III — <i>Les variations quantitatives des alcaloïdes et leurs migrations : A. — Dans les plantes adultes</i>	25
<i>Les variations au cours de la végétation dans des conditions moyennes ; expériences entreprises</i>	25
<i>a) Variations dans différents organes</i>	25
<i>b) Variations comparatives dans les organes végétatifs et reproducteurs</i>	38
CHAPITRE IV. — <i>Variations dans les différents organes après dessiccation des plantes dans les mêmes conditions</i>	40
CHAPITRE V. — <i>Les variations provoquées sous l'influence de différents facteurs extérieurs. — Nutrition</i>	49
<i>a) Variations avec les conditions de culture : action des engrais</i>	49
<i>b) Expériences d'annélation ou de décortication annulaire</i>	57
<i>c) Suppression de nutrition azotée</i>	59

d) Expériences de nutrition des plantes au moyen des alcaloïdes.....	60
CHAPITRE VI. — <i>Conditions d'éclairement et climatologiques</i>	70
a) Influence de l'éclairement	70
b) Action des différentes radiations solaires.....\.....	73
c) Expériences comparatives à la lumière et à l'obscurité.	76
d) Changements d'altitude.....	80
CHAPITRE VII. — B. — <i>Migrations dans la greffe : expériences</i> ..	82
C. — <i>Migrations pendant la germination des graines</i>	83
CHAPITRE VIII. — <i>Le rôle physiologique des alcaloïdes chez les végétaux</i>	88
a) les conceptions finalistes.....	89
b) les conceptions des physiologistes actuels.....	100

DEUXIÈME PARTIE

NOS RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LE LUPIN.

CHAPITRE IX. — 1. Méthodes employées.....	102
2. Localisation microchimique.....	102
✓ CHAPITRE X. — <i>Variations quantitatives des alcaloïdes</i>	112
I. Variations dans différents organes.....	112
a) dans les feuilles d'un même pied	112
b) dans les feuilles jeunes	114
c) dans les graines à différents stades de maturation.....	115
d) dans les graines mûres, de récoltes successives effectuées sur un même sol.....	117
II. Variations dans les différents organes d'une même plante.....	118
III. Variations au cours de la dessiccation dans des conditions variées.....	123
CHAPITRE XI. — <i>Variations provoquées sous l'influence de différents facteurs extérieurs. — Nutrition</i>	129
a) Variations avec les conditions de culture : action des engrais.....	129

b) Suppression de la nutrition azotée.....	143
CHAPITRE XII. — <i>Conditions d'éclairement et climatériques</i>	145
a) Influence de l'éclairement.....	145
b) Cultures par temps sec et par temps humide.....	149
c) Expériences comparatives à la lumière et à l'obscurité..	152
d) Variations de provenance.....	155
1. Changements d'altitude : cultures en plaine et en mon- tagnes.....	155
2. Changements de latitude : cultures en France et au Maroc.	157
CHAPITRE XIII. — <i>Migration pendant la germination des graines et la formation des plantules</i>	158
<i>Conclusions de nos expériences</i>	164
BIBLIOGRAPHIE.....	170

PREMIÈRE PARTIE

LES TRAVAUX ANTÉRIEURS SUR L'ÉTUDE BIOLOGIQUE DES ALCALOÏDES (résumé et mise au point)

CHAPITRE PREMIER

ÉTUDE STATIQUE DE LOCALISATION MICROCHIMIQUE DES ALCALOÏDES

1. — La localisation et la répartition des alcaloïdes dans les diverses familles végétales a été exposée d'une façon magistrale par GORIS qui, possédant une documentation complète, a groupé toutes les connaissances acquises sur le sujet jusqu'en 1914 (1). Nous avons pris dans cette étude quelques points spéciaux qui nous intéressent particulièrement :

a) De nombreuses localisations ont été faites chez les *légumineuses* : en particulier celle de la spartéine a été effectuée dans le *Sarothamnus scoparius*, par AUDEMARD⁶ en 1902 et confirmée par A. JACQUEMIN⁷ en 1906. Ces auteurs employèrent la méthode d'Errera, et les résultats furent contrôlés à l'aide du Réactif de Mayer-Valser et à l'aide du phospho-molybdate de soude. — Enfin, en faisant agir sur des coupes une solution à 5 % de SO_4H_2 et en suivant la réaction au microscope, ils purent assister à la production de petits cristaux de sulfate de

1. Nous renvoyons à son travail pour l'exposé des détails.

spartéine. La réaction met 15 minutes à se produire. Si, ensuite, on fait arriver le Réactif de Bouchardat sous la lamelle, on constate la formation d'un précipité aux endroits où se trouvait la spartéine.

b) La localisation des alcaloïdes chez les lupins a été faite :

1° par ERRERA, 1889, dans *Lupinus elegans* H. B. et K.

2° Surtout par JACQUEMIN¹, 1906, dans les espèces suivantes : *L. mutabilis* Swet, *L. luteus* L. ; *L. albus* L. ; *L. angustifolius* L. ; *L. polyphyllus* Lindl. ; *L. micranthus* Donge.

Racine : on trouve un précipité abondant dans tous les tissus ; *tige* : *a)* dans l'axe hypocotylé et dans la tige épicotylée jeune, l'alcaloïde réside dans l'épiderme, le parenchyme cortical, les rayons médullaires et au voisinage du bois ; *b)* dans les tiges âgées, il est surtout abondant dans l'épiderme et vers les couches externes du parenchyme cortical.

Feuilles : l'alcaloïde est surtout situé : 1° dans les deux épidermes ; 2° dans la nervure médiane (parenchyme et liber).

R. — Dans le limbe, sa présence est masquée par la chlorophylle, et le précipité brun-kermès apparaît autour de chaque grain sous forme d'un fin pointillé.

Dans les cotylédons : les cellules à alcaloïdes existent surtout dans les deux épidermes et dans les assises palissadiques.

Fleur : *a)* corolle : les réactions sont surtout intenses dans les deux épidermes ; *b)* calice, seulement dans l'épiderme externe des sépales ; *c)* étamines, pistil : les tissus sont très riches.

Fruit vert (gousse) : surtout dans l'épicarpe et à la base des poils.

Graine : la localisation a été faite également par Clautriau dans *L. albus* : *a)* tégument : absence ; *b)* amande : les cotylédons en renferment en grande abondance dans les épidermes, le parenchyme, le liber ; on en trouve aussi beaucoup dans la radicule et la gemmule.

3° VAN DYCK³, 1900, a étudié la répartition au cours de la végétation : dans la graine de lupin, les cotylédons, gorgés d'al-

calotdes, perdent peu à peu ce principe pendant la germination. — On le retrouve dans la racine, l'axe hypocotylé et les feuilles : dans l'épiderme et autour des faisceaux. — A mesure que la plante croît, il disparaît progressivement de l'appareil végétatif.

2. — Depuis 1914, un certain nombre de travaux sur la biologie des alcaloïdes ont été publiés, mais nous devons remarquer que l'étude du dosage des alcaloïdes dans les organes étudiés prend une place prépondérante et que la localisation microchimique est, non pas négligée totalement, mais très réduite.

Cependant en 1922, RUPERT⁹, dans son étude sur la belladone, a employé la méthode d'Errera pour étudier les alcaloïdes : 1^o pendant la période de végétation normale ; 2^o en soumettant la plante à l'action de différents facteurs : a) suivant l'éclairement : des différences de coloration et des variations morphologiques sont observées auxquelles correspondent des variations de répartition alcaloïdique dans les tiges exposées à un éclairement unilatéral ; b) à la suite de modifications fonctionnelles produites par des blessures superficielles : exemples grattages, piqûres, ou profondes dans la plante : exemple décortication annulaire, décapitation.

3. — **Résultats** fournis par la localisation des alcaloïdes : il résulte des nombreux travaux entrepris de 1886 à nos jours que, dans les plantes, les alcaloïdes semblent répartis suivant un mode très général.

A. — *Plante normale*. 1. — Dans l'appareil végétatif ils se trouvent surtout dans les parties externes des organes : assise tubéreuse de la racine ; épiderme et poils tecteurs, assise sous-épidermique de la tige, épidermes de la feuille ; 2. — dans l'appareil reproducteur : graine ; tantôt uniquement dans le tégument : exemple datura ; tantôt dans l'albumen, dans l'embryon : exemple lupin ; 3. — dans l'appareil sécréteur.

B. — *Plante influencée par différents facteurs* : un éclairement plus intense, une action purement mécanique paraissent provoquer une formation d'alcaloïdes.

Comment interpréter ces résultats, autrement dit quelles déductions peut-on tirer, au point de vue de la biologie des alcaloïdes, de leur localisation microchimique ?

1^o Ces méthodes sont susceptibles de fournir des résultats précieux quand on veut se rendre compte de la répartition d'un alcaloïde dans les divers organes d'une plante pendant son développement normal ou anormal ;

2^o elles ne donnent que des renseignements de valeur très incertaine quand on veut suivre les variations quantitatives de cet alcaloïde dans un organe donné, et des réserves sont à faire sur la plupart des résultats obtenus ainsi. En effet, pour cela on se base sur l'intensité des réactions (précipitation ou coloration) obtenues dans les tissus : a) d'abord, l'estimation des différences d'intensité de réaction est très approximative ; b) ensuite, l'intensité de réaction produite avec les alcaloïdes varie suivant la concentration du suc cellulaire et non avec la quantité absolue d'alcaloïdes contenue dans les tissus étudiés ; elle ne permet donc pas de juger de la proportion des alcaloïdes dans un organe déterminé. D'autre part, certaines substances de nature différente peuvent masquer ou atténuer plus ou moins la réaction. Donc la précipitation ou la coloration ne pourront nous renseigner que sur la présence de l'alcaloïde dans certaines cellules des tissus, renseignements d'ordre qualitatif, qui pourront être utiles au pharmacologue soit pour reconnaître la nature chimique des principes actifs, soit pour faciliter leur extraction. Mais ils ne nous permettront pas de connaître la quantité d'alcaloïdes contenue même dans une portion de plante et par suite de suivre les migrations. Néanmoins, la méthode microchimique de localisation des alcaloïdes, méthode qualitative rapide et facile le plus souvent :

1. a permis à certains auteurs de tirer quelques indications biologiques : ex. 1^o les alcaloïdes tendent à se transporter vers les régions externes de la tige, qui seront éliminées plus tard, entraînant avec elles l'alcaloïde : ainsi chez *Cinchona* ;

ex. 2^o On peut déterminer l'époque de l'apparition des alca-

loïdes au moment de la germination des graines sans alcaloïdes ou celle de leur disparition dans certaines conditions de végétation ;

ex. 3^e D'une façon générale, les alcaloïdes se trouvent surtout dans les régions de grande activité cellulaire : ainsi P. GUÉRIN¹⁰ et d'autres après lui ont pu constater par cette méthode le déplacement continu des alcaloïdes des appareils végétatifs vers les appareils reproducteurs.

2. La méthode microchimique peut venir en aide à la méthode chimique de dosage des alcaloïdes : elle peut en effet la précéder et la guider. Et c'est pourquoi la plupart des auteurs qui ont étudié les variations biologiques des alcaloïdes dans les plantes ont eu parfois recours à elle, avant de faire des dosages.

Cette méthode microchimique qui permet d'opérer sur la plante fraîche et de situer exactement l'alcaloïde pendant la vie normale présenterait une réelle supériorité sur la méthode chimique (qui ne peut être utilisée que sur la plante morte, tuée par dessiccation lente à l'étuve ou à l'air libre et pendant laquelle il s'est produit plus ou moins des modifications dues à des ferments, et des pertes en alcaloïdes), s'il existait un moyen microchimique de dosage de l'alcaloïde ; alors le problème de ses variations serait résolu.

Mais cette méthode microchimique de dosage des alcaloïdes est encore à trouver.

CHAPITRE II

APERCU GÉNÉRAL SUR LEUR CONSTITUTION CHIMIQUE : LES GRANDS FAMILLES CHIMIQUES D'ALCALOÏDES.

1. — *Définition des alcaloïdes* : on désigne ainsi des substances azotées hétérocycliques, à structure moléculaire relativement complexe pouvant présenter des différences chimiques très grandes entre elles, mais rapprochées par un certain nombre de propriétés communes :

1. Tous ont des propriétés basiques plus ou moins prononcées ; ainsi la nicotine a une basicité forte, analogue à celle de l'ammoniaque, alors que la caféine au contraire est presque neutre. Entre ces deux extrêmes toute une gamme d'intermédiaires.

2. Tous forment avec les acides des sels plus ou moins stables, précipitables en solution aqueuse par un certain nombre de réactifs dits généraux.

3. Ils existent dans les plantes non à l'état libre, mais soit sous forme de sels, soit combinés aux tanins. La plupart sont cristallisables et fixes : ce sont des alcaloïdes oxygénés, sauf quelques exceptions (pilocarpine, pelletiérine) ; quelques-uns sont liquides et volatils, ils manquent d'oxygène : conicine, nicotine, spartéine. Ils sont souvent caractéristiques de certaines familles, de certains genres ou espèces.

4. Ils présentent des actions physiologiques puissantes et variées sur les animaux.

2. — *Aperçu sur leur constitution chimique* : le noyau fondamental organique qui constitue ces *bases végétales*, comme on les appelle encore, est variable suivant l'alcaloïde considéré. En

réunissant ceux qui possèdent un même noyau, on constitue ainsi des familles chimiques dont les cinq principales sont les suivantes :

1. *Alcaloïdes dérivés de la purine* : dont le noyau existe dans la caféine du caféier, du théier, dans la théobromine du cacaoyer.

2. *Alcaloïdes dérivant du pyrrol ou de l'un de ses dérivés, la pyrrolidine* : la nicotine du tabac, l'atropine et les autres alcaloïdes des solanées mydriatiques, la cocaïne de l'*Erythroxylon coca*.

3. *Alcaloïdes dérivant de la pyridine ou de l'un de ses dérivés, la pipéridine* : la conicine de la ciguë, la spartéine du genêt et du lupin, la strychnine et la brucine des strychnées, l'aconitine des aconits.

4. *Alcaloïdes dérivant du pyrrol associé au noyau benzénique* : noyau indol qui existe chez quelques alcaloïdes.

5. *Alcaloïdes dérivant de la pyridine associée au noyau benzénique* : noyaux quinoléine ou isoquinoléine que l'on trouve dans la quinine et les autres alcaloïdes des quinquinas.

6. *Alcaloïdes dérivant du phénanthrène* : morphine et alcaloïdes voisins du pavot.

7. *Alcaloïdes dérivant de la bétaine* : caractérisés non plus par un noyau cyclique, mais par un groupement ammonium quaternaire : choline, muscarine de certains champignons.

Etude du mécanisme biologique de leur formation.

Les hypothèses formulées sur leur origine sont au nombre de deux principales, plus ou moins ingénieuses au point de vue chimique, mais ne reposant pas sur des bases expérimentales certaines :

1. — *Les alcaloïdes dérivent des acides aminés*. C'est la théorie généralement admise. Des liens chimiques étroits semblent relier

alcaloïdes et matières protéiques : presque tous les alcaloïdes sont constitués par [un noyau pyrrolique ou pyridique ou renferment un de ces noyaux dans leur molécule. D'où l'idée de rapprocher, à cause de leur constitution, la formation des alcaloïdes de celle des matières protéiques.

Mais ainsi que le faisait remarquer GORIS dans son travail, « les alcaloïdes sont-ils une étape dans l'édification de la molécule albuminoïde, ou au contraire des albuminoïdes en voie de dégradation » ?

Les alcaloïdes semblent dériver des *acides-aminés* issus de l'hydrolyse des matières protéiques : en effet un grand nombre des noyaux des alcaloïdes retirés des plantes se retrouvent dans les produits de désagrégation des matières protéiques, ainsi que la classification générale des alcaloïdes peut le montrer :

a) L'origine albuminoïde des alcaloïdes à noyaux puriques, bétaïques, pyrroliques semble avoir été bien mise en évidence.

Exemple : analogie de constitution entre la caféine et la théobromine retirées des végétaux et les produits similaires de dégradation des nucléoprotéides des tissus ; exemple : parenté de constitution entre les alcaloïdes du groupe de l'indol et le tryptophane, entre les alcaloïdes pyrroliques et la proline ou alcaloïde pyrrolidine carbonique, provenant de l'hydrolyse des matières protéiques ; exemple, l'hydrolyse des lécithides produisant de la choline, de la bétaïne, expliquerait l'existence dans certaines plantes d'alcaloïdes contenant ces noyaux.

b) Le rapprochement entre les alcaloïdes à noyaux pyridiques et quinoléïques et les matières protéiques est moins nettement visible.

Or l'étude du mode de formation de ces derniers alcaloïdes a conduit successivement : 1. à l'hypothèse ingénieuse de A. PICTET, 1905, sur la genèse des alcaloïdes ; 2. aux recherches expérimentales de CIAMICIAN ET RAVENNA, 1912.

1. A. PICTET fait dériver les bases pyridiques et quinoléïques des deux noyaux pyrrol et indol (c'est-à-dire en somme des acides aminés : proline et tryptophane) par méthylation.

Pour cela il attribue à l'aldéhyde formique, premier produit de synthèse de l'assimilation chlorophyllienne, le rôle d'agent méthylant intra-cellulaire : dans la plante, et par conséquent à froid. 1^e il transformerait (par fixation de CH^2 et transposition moléculaire d'un 5^e atome de carbone), le noyau pyrrolique à 5 sommets en noyau pyridique à 6 sommets, transformations qui exigent dans nos laboratoires l'emploi de la chaleur et de réactifs énergiques ; 2^o d'autre part, il méthyletrait divers alcaloïdes : en effet on a remarqué que les alcaloïdes d'une même plante peuvent être rangés en séries homologues où certains atomes d'H sont remplacés par des radicaux CH^3 : exemples, dans la ciguë la conicine est associée à la méthylconicine ; dans le pavot la morphine à la méthylmorphine ou codéine.

Pour appuyer son hypothèse, PICTET invoque la présence dans certains alcaloïdes d'un noyau pyrrolique et d'un noyau pyridinique associés ; exemple : dans la nicotine, l'atropine, la cocaïne. Et, dans certaines plantes, on trouve à la fois des alcaloïdes à noyau pyridique et d'autres à noyau pyrrolique.

WINTERSTEIN ET TRIER¹³, en 1910, ont admis l'hypothèse de A. PICTET bien qu'à cette époque aucun fait expérimental ne soit venu la confirmer.

2. CIAMICIAN ET RAVENNA¹², 1912, ont essayé de démontrer par l'expérience la formation des alcaloïdes à partir des bases pyridiques et pyrroliques.

Le but de leurs recherches était de savoir si certaines substances azotées, injectées à des plantes alcaloïdifères, avaient une action sur la teneur en alcaloïdes de ces plantes.

Principe : 1. Injecter à des plantes renfermant normalement des alcaloïdes : exemple datura, tabac, des composés pyridiques variés : pyridine, pipéridine, acide carbopyrrolique ; 2. Doser les alcaloïdes dans ces plantes et dans d'autres semblables non injectées et servant de témoin. Une augmentation d'alcaloïdes dans les plantes injectées serait en faveur de l'hypothèse de Pictet.

Mode opératoire et résultats : a) dans plusieurs séries d'expériences sur la datura et sur le tabac avec le tartrate de pyridine,

le tartrate de pipéridine, le carbopyrrolate de sodium, injectés à doses variables, à 3-4 reprises, à 15 jours environ d'intervalle, ils avaient constaté une légère augmentation dans les proportions d'alcaloïdes dans les plantes. Les matières injectées disparaissaient assez rapidement ; exemple 1.400 grammes de tartrate de pyridine avaient été introduits en 4 fois à 15 jours de distance dans 90 pieds de tabac ; à la fin de l'expérience il n'en restait plus que 8 grammes et la teneur en nicotine était passée de 0 gr. 74 % à 1 gr. 10 %. Ainsi donc, la pyridine disparaissait presque entièrement tout en déterminant une légère augmentation de la teneur en alcaloïdes formés.

Ils pouvaient croire à une action spécifique de la pyridine sur la formation des alcaloïdes.

b) dans une nouvelle série d'expériences sur le tabac, ils utilisèrent comme substances injectables : α) des substances azotées différentes : d'où expérience avec asparagine, tartrate d'ammonium, tartrate de pyridine ; β) des substances non azotées : les sucres ayant une grande influence sur l'augmentation de l'acide cyanhydrique dans les plantes qui en contiennent, ils employèrent le glucose, et aussi une substance aromatique très oxygénée, l'acide phtalique ; γ) d'autre part, ils voulurent s'assurer si les blessures produites sur les plantes par l'inoculation des substances pouvaient déterminer une variation dans la teneur en alcaloïdes comme elles en provoquaient dans le cas de l'acide cyanhydrique ; il suffisait pour cela d'opérer par comparaison sur 5 plantes blessées, comme dans le cas d'inoculation de substance (et dont ils avaient fermé l'ouverture avec de la paraffine) et sur 5 plantes témoins non blessées.

Conclusions. — 1. Si la pyridine produit une légère augmentation d'alcaloïdes, il ne s'agit pas là d'une action nettement spécifique, car elle a lieu également avec NH_3 , le glucose et c'est avec l'asparagine qu'elle est la plus marquée.

2. La blessure faite pour l'inoculation pourrait suffire à elle seule pour provoquer une augmentation de la teneur en alcaloïdes.

En somme donc, et d'après les auteurs eux-mêmes, les expériences précédentes ne sont pas suffisamment concluantes :

On pourrait même être tenté de supposer, d'après ces derniers résultats, une formation des alcaloïdes à partir des amides exemple asparagine.

La question a été reprise d'une autre façon par certains auteurs : en 1917, par G. PARIS ¹⁴ sur les feuilles de tabac, ainsi que nous le verrons plus loin. Cet auteur a constaté que dans certaines conditions de végétation, la teneur en azote soluble (amide) diminue dans cette plante, par contre celle de la nicotine augmente. Pour lui, la nicotine se formerait aux dépens des amides.

Nous verrons plus loin également que WEWERS ¹⁵, 1927-1929, dans le but de savoir ce que deviennent les alcaloïdes dans les cas où l'on avait constaté qu'ils disparaissaient des cellules, avait suivi parallèlement les variations des matières protéïques et celles de la caféine : d'une part dans les feuilles adultes de *Thea assamica*, d'*Ilex paraguayensis*, de *Chinchona succirubra*, séparées de la plante et maintenues soit à l'obscurité, soit à la lumière en l'absence de Co^2 , d'autre part, pendant la germination avec les graines de *Coffea arabica* placées dans les mêmes conditions d'éclairement.

Il avait constaté que, dans les deux séries d'expériences, et contrairement à ce qui se passait à la lumière en milieu assimilable, on pouvait noter à l'obscurité une augmentation de la caféine concomitante d'une diminution des matières protéïques. Cette augmentation en alcaloïdes avec les feuilles de thé pouvait atteindre de 27 à 35 %.

Et il concluait de ses diverses expériences que la caféine se formait au cours de la protéolyse, mais que ce n'était pas un produit immédiat de dédoublement des matières protéïques, car l'hydrolyse artificielle de l'albumine de la graine de caféier n'en donnait pas ; c'était un produit secondaire. Il en serait de même des alcaloïdes du quinquina.

2. — L'ancienne hypothèse émise par DUNSTAN (1), en 1887, et reprise ensuite par GADAMER, 1914, faisait dériver les alcaloïdes des glucides : amidon, sucres, qui par oxydation donneraient naissance aux acides organiques avec lesquels les alcaloïdes sont combinés et qui, par l'intermédiaire de l' N H^3 , conduiraient aux dérivés pyridiques. Or, cette hypothèse est moins en faveur actuellement que la précédente, car elle ne permet pas toujours d'envisager le passage de l'acide à l'alcaloïde et, par suite, manque de généralité ; d'autre part, aucun fait expérimental n'a permis de la vérifier.

Mais ainsi que le disait GORIS en 1914 « il est probable que le mode de formation des alcaloïdes n'est pas uniforme. Peut-être varie-t-il avec la nature chimique de chaque alcaloïde étant donné la diversité de leur composition ».

D'autre part, POLONOWSKI ¹⁹ qui, en 1924 (2) faisait remarquer qu'à cette époque aucun fait expérimental n'avait montré que les alcaloïdes dérivait des matières protéiques, considérait que ces deux groupes de corps, constitués par les mêmes éléments, pouvaient se former parallèlement. « La production des alcaloïdes serait un épi-phénomène dans le métabolisme des protéiques ; elle aurait lieu en même temps que la protéogénèse, et, accessoirement, par le jeu des lois d'équilibre chimique. »

Même en admettant l'hypothèse de la formation des alcaloïdes aux dépens des protéiques (3), il est une partie du problème qui, d'après POLONOWSKI, reste complètement dans l'ombre, c'est l'origine même des acides aminés auxquels en dernière analyse tous les auteurs ont fait appel ; c'est là, d'après l'auteur, le point délicat de toute la question et peut-être celui dont la résolution donnerait la clef de tout le mécanisme de la genèse des substances azotées de la plante. C'est peut être aussi le point le plus difficile à vérifier par l'expérience.

1. R. ROBINSON ¹⁸, 1917, complète l'hypothèse de Dunstan : pour lui, un grand nombre d'alcaloïdes se formeraient aux dépens de l'aldéhyde formique, des acides aminés, des acides organiques, de l'ammoniaque.

2. Conférence à la Société chimique de France.

3. Ainsi que les expériences récentes de WEWERS semblent le montrer.

CHAPITRE III

LES VARIATIONS QUANTITATIVES DES ALCALOÏDES ET LEURS MIGRATIONS

A. — Dans les plantes adultes

De nombreux facteurs interviennent sur les migrations des alcaloïdes et les variations de teneur dans ces plantes, dont nous connaissons encore mal le rôle. C'est à dégager l'action de chacun d'eux que nous devons nous attacher. Le problème est difficile, mais il mérite d'être étudié avec attention à cause de l'importance des résultats à la fois théoriques et pratiques qu'il peut donner.

Variations au cours de la végétation dans des conditions moyennes : les renseignements sont assez nombreux sur les variations des alcaloïdes au cours du développement normal de la plante.

Tantôt les expériences entreprises ont porté uniquement sur un organe déterminé : exemple racine, tubercule, feuilles, fruits ou graines ; tantôt par comparaison à la fois sur les organes végétatifs et sur les organes reproducteurs.

a) *Variations dans différents organes* :

1. — *Variations des alcaloïdes dans les racines* : on a pensé tirer de cette étude quelques indications sur leur rôle. Les expériences ont porté sur la racine de Belladone, organe de réserve qui sert à la formation d'organes aériens : si les alcaloïdes sont employés à cette construction, disait-on, la teneur au cours de la végétation variera dans cette racine.

a) L'expérience d'HENDERSON²⁸, 1912, a montré que les variations au cours d'une année étaient nulles (comprises entre 0 gr. 50, 0 gr. 59 %).

b) Expériences de LAURENT²⁷ 1906, lors de ses recherches sur les greffes des solanacées : il a prélevé des racines de Belladone en novembre alors que la plante est dépouillée de son appareil aérien, et en fin février, au moment où la Belladone a repris son activité, sans avoir toutefois formé de parties vertes. Si les alcaloïdes ont été employés, on observera une diminution de leur pourcentage ; au contraire, si aucune variation n'est constatée, c'est que ces substances accumulées n'ont pas été utilisées dans la première période de végétation. En somme, son expérience complète celle d'HENDERSON et, si l'on consulte ses tableaux, on voit que la quantité d'alcaloïdes a peu varié : le % est resté presque identique aux deux périodes : exemple : novembre 0 gr. 293 % — février 0 gr. 297 % ; — novembre 0 gr. 312 % — février 0 gr. 308 %. Donc, on ne peut conclure que les alcaloïdes de la racine peuvent être utilisés au moment de la reprise de végétation, en faisant observer, toutefois, que les alcaloïdes ont été rapportés à 100 d'organes et non à un pied.

2. — *Variations dans les tubercules et feuilles : variations de la teneur alcaloïdique dans les tubercules d'aconit et dans les feuilles avec l'âge*, c'est-à-dire pendant la période de végétation de la plante : ce point important a été envisagé par M. Métin³⁰ dans son travail sur les aconits :

a) Tout d'abord YDRAC de Bagnères-de-Bigorre avait constaté, par des dosages d'alcaloïdes totaux effectués sur des tubercules récoltés dans la région de Payolle en août, septembre, octobre 1920, que la quantité d'alcaloïdes diminuait dans le bulbe florifère : 0 gr. 73 %, 0 gr. 37. 0 gr. 33, alors qu'elle ne variait pas dans les tubercules de remplacement (tubercules jeunes) : 0 gr. 54, 0 gr. 53 quand ils ont atteint leur complet développement. Donc l'alcaloïde se détruit, mais ne passe pas dans le tubercule de remplacement.

b) Expérience de M. MÉTIN 1924 : a) *Technique* : l'auteur a

effectué des récoltes d'aconits, cultivés à 500 mètres, et d'aconits sauvages, d'avril à octobre et de mois en mois. Il a noté pour chacun des quatre lots : la teneur alcaloïdique des divers organes, notamment dans les tubercules et les feuilles ; l'aspect extérieur de la plante au moment de la récolte.

β) *Résultats* au point de vue teneur alcaloïdique :

1. *Tubercules* : la teneur diminue très nettement chez le tubercule florifère : 1 gr. 043 % en avril ; 0 gr. 427 en juillet ; 0 gr. 370 en octobre alors que celle des racines suit une marche inverse, avec une augmentation très accusée au moment de la formation des graines : 0 gr. 505 en avril ; 0 gr. 762 en septembre ; 0,630 en octobre : pendant la même période la teneur du tubercule de remplacement s'accroît et ses racines s'enrichissent encore plus fortement, avec un maximum comme plus haut au moment de la formation des graines : tubercules en mai 0 gr. 557 ; en août 0,692 ; en octobre 0,969 racines en juin, 0,500 ; en septembre 1 gr. 176.

La teneur des deux tubercules variant en sens inverse, on pourrait donc croire que le tubercule de remplacement s'enrichit aux dépens du tubercule florifère. Mais non, car : 1° dans certains cas, la teneur des deux tubercules s'abaisse simultanément ; 2° dans d'autres, le tubercule florifère s'appauvrit nettement, mais le tubercule de remplacement reste stationnaire ; 3° dans certains lots, l'enrichissement du tubercule de remplacement n'est pas compensé par la perte du tubercule florifère pendant la même période.

Il résulte donc qu'au point de vue alcaloïdique les deux tubercules vivent d'une façon complètement indépendante

2. *Feuilles* : leur teneur, relativement élevée au printemps 0 gr. 503, s'abaisse brusquement en mai 0 gr. 263 pour rester à peu près stationnaire dans la suite, 0 gr. 185 en octobre (1).

γ) *Conclusions* : 1. le tubercule florifère et les feuilles s'appauvrissent d'avril à octobre, alors que le tubercule de remplace-

1. Un graphique très clair permet de suivre facilement ces variations.

ment et les radicelles suivent une marche inverse. Par suite, les premiers doivent être récoltés pour l'usage pharmaceutique au printemps, un peu avant la floraison, et sans rejeter les radicelles dont la teneur est constamment supérieure à celle des tubercules correspondants. Ce qui permettrait de conserver le tubercule de remplacement pour la transplantation.

3. — *Variations dans les feuilles* : un assez grand nombre d'expériences ont été effectuées par divers auteurs sur des plantes différentes et ont abouti au même résultat suivant : augmentation de la teneur en alcaloïdes dans la feuille jusqu'à complet développement de celle-ci, puis diminution progressive dans cet organe à partir de la floraison : exemples : expériences des KELLNER, MAKINO, OGASAWARA²¹ 1883, puis de WEWERS, et de WEWERS DE GRAAF²² 1903, sur les feuilles de théier ; de VAN ROMBURGH ET LOHMANN, 1896, sur les feuilles de théier, de caféier ; de TUNMANN ET JENZER, 1910, sur les feuilles de coca, et celles de jaborandi ; de CHUARD ET MELLET²³, 1912, sur les feuilles de tabac (mentionnées par GORIS, dans son travail de 1914).

Nous exposons brièvement les expériences de KELLNER et de ses collaborateurs sur les feuilles de thé, car nous verrons dans la suite qu'elles présentent un certain intérêt : ils ont dosé la caféine le 1^{er} et le 15 de chaque mois et ils ont constaté que la proportion, qui était de 2 gr. 85 % le 15 mai, était tombée à 1 % le 30 novembre.

A cette diminution de caféine avait coïncidé dans les feuilles une augmentation de matières albuminoïdes et les auteurs concluaient que la diminution d'alcaloïdes était compensée par une augmentation d'albumine ; d'après eux la caféine venant du dédoublement des albuminoïdes pouvait éventuellement servir à en reformer. CLAUTRIAU, faisait remarquer, ainsi que le rapporte GORIS (1914), que rien ne prouvait que l'augmentation des protéiques venait des alcaloïdes : 1. de mai à novembre la plante avait augmenté de poids et son % en alcaloïdes dans les feuilles pouvait avoir diminué bien que la quantité totale dans la plante n'ait pas varié. 2. l'augmentation d'albumine pouvait s'expli-

quer par un apport d'azote venu du sol. D'après nous les auteurs auraient dû faire leurs déterminations non pas seulement en valeur absolue % d'organe, mais aussi par rameau ou par plante : ils auraient vu si la plante avait gagné ou perdu de l'alcaloïde au cours de son développement.

WEWERS et M^e WEWERS DE GRAAF²², dans des recherches poursuivies au Buitenzorg sur le thé, constatèrent que la caféine disparaissait dans les feuilles un peu avant leur chute et en même temps de l'écorce des vieilles branches qui portent ces feuilles. Si l'alcaloïde n'existe plus dans les feuilles sans avoir été mis en réserve autre part, il faut donc disent-ils, qu'il ait été réassimilé, c'est-à-dire qu'il soit rentré dans le cycle nutritif de la plante.

Parmi les expériences plus récentes, il convient de citer :

1^o Celles de F. BEAUSITE³¹, 1919, sur les feuilles de belladone récoltées de juin à novembre : essais tentés dans les cultures DAUSSE à Etréchy, la plante développée dans une bonne terre à blé fumée avec de la gadoue. La récolte la plus riche en alcaloïdes : pour 100 gr. de poudre 0 gr. 84 % et pour 100 gr. d'extrait 4 gr. 24 %, fut celle de juin-juillet correspondant à l'époque de la floraison de la plante.

Dans son travail, BEAUSITE, après avoir fait l'historique des procédés de dosage des alcaloïdes dans les feuilles de Belladone et dans les extraits de feuilles, compare entre eux les différents procédés et il insiste beaucoup sur le fait qu'il y a lieu de tenir compte à la fois du rendement de la plante en extrait, c'est-à-dire en feuilles d'une part, de l'autre de sa richesse en alcaloïdes % de feuilles, car ces deux données, contrairement à ce que l'on a admis souvent, sont assez indépendantes l'une de l'autre.

2^o Les expériences de J. RIPERT⁹, 1922, faites surtout sur les feuilles de belladone, mais portant aussi sur les tiges et les racines :

a) *Principe* : il prélève à quelques jours de distance des organes sur les plantes et il dose les alcaloïdes dans ces organes,

les albuminoïdes dans les feuilles et il établit des comparaisons.

b) *Résultats et interprétation* : en 1920, l'auteur prélève des feuilles seulement une fois par mois sur les pieds de belladone et il dose les alcaloïdes % ; il constate une augmentation dans la teneur en alcaloïdes avec le développement de la plante : le maximum correspond à la pleine floraison. Voici ces chiffres : 0 gr. 297 % au moment de la reprise de la végétation, puis : 0 gr. 321, 0 gr. 354, 0 gr. 384 (floraison).

En 1921 : a) *Analyse des premières pousses normales* : il prélève tous les quinze jours des échantillons de tiges, feuilles et racines, et détermine dans ces organes, comparativement, la teneur en principe actif % et, dans les feuilles, la teneur en azote albuminoïde %. Il constate que : dans les feuilles, la teneur en alcaloïdes et en azote albuminoïde croît parallèlement jusqu'à la floraison, puis diminue pour disparaître totalement (1) ;

Dans les tiges, elle croît de même, mais diminue lentement, les feuilles nouvelles entretenant toujours les échanges vitaux (2) ;

Dans les racines, elle ne varie pas : 0 gr. 250 au début, 0 gr. 245, 0 gr. 257 (floraison) 0 gr. 253. On pourra en conclure que ces échanges sont constants : si sa teneur % n'augmente pas, cela serait dû à ce que les alcaloïdes formés se répartissent dans les pousses nouvelles, car la racine augmente de poids chaque année. Or ses parties jeunes et ses parties vieilles ont le même pourcentage.

Un tableau résume la variation comparée des alcaloïdes dans les feuilles, les tiges et les racines et celles de l'azote albuminoïdique % dans les feuilles. Un graphique permet de comparer l'évolution relative des alcaloïdes et des matières albuminoïdes dans les feuilles de premières pousses.

1. Voici les chiffres en alcaloïdes % ; au début 0 gr. 445, puis 0 gr. 462, 0 gr. 540, 0 gr. 548, 0 gr. 575 (floraison) 0 gr. 436, 0 gr. 173, 0 ; azote albuminoïde % : 1 gr. 11 (début), 2 gr. 57 (floraison), 0 gr. 08 (fructification).

2. La teneur en alcaloïdes % suit la progression suivante : 0 gr. 387, 0 gr. 515, 0 gr. 539 (floraison), 0 gr. 410, 0 gr. 216.

b) *Analyse des repousses de belladone* : RIPERT coupe les tiges au ras du sol : les premières et deuxième repousses de remplacement sont analysées : dosage des alcaloïdes dans les feuilles et les tiges. L'auteur constate : 1° dans les feuilles, une augmentation de la teneur jusqu'à l'époque de fructification ; 0 gr. 532-0 gr. 548 ; 0 gr. 852-0 gr. 903 %. 2° Dans les tiges une teneur souvent égale à celle des feuilles ; 0 gr. 498-0 gr. 513 ; 0 gr. 724 0 gr. 787 %. Et il se demande, s'appuyant pour cela sur ce résultat d'expériences, pourquoi l'on ne se sert pas des tiges comme des feuilles dans l'industrie pharmaceutique : le traitement étant le même que pour ces dernières.

3° Les expériences de G. PARIS¹⁴ 1917 :

Principe : étudier comparativement les variations de la nicotine et de l'azote soluble (azote amidé) dans les feuilles de tabac dans des conditions particulières de nutrition (forçage en milieu azoté).

Technique opératoire : des feuilles de tabac sont coupées longitudinalement en deux parties égales ; certaines moitiés sont mises à flotter sur de l'eau distillée ; d'autres sur une dissolution de Chlorure d'ammonium à 0 gr. 25 % et à la lumière diffuse.

Résultat : 1. la teneur en nicotine dans les parties flottant sur l'eau pure est de 1 gr. 88-1 gr. 54 % ; celles correspondant à la solution ammoniacale titraient 2 gr. 22-2 gr. 01 ; 2. dans la plante forcée, à une augmentation de teneur en nicotine correspond une diminution de l'azote soluble (amidé).

Interprétation : le forçage des feuilles de tabac en milieu azoté a conduit à une accumulation de nicotine correspondant à une diminution de l'azote soluble (amidé).

Conclusion : il semblerait, d'après l'auteur, que dans certaines conditions de nutrition, la nicotine des feuilles de tabac se formerait aux dépens des amides.

4° Récemment, WEWERS¹⁵ et ¹⁶ a effectué des études semblables sur les feuilles de plantes à caféine, et tous ses résultats ont été rapportés non plus seulement à un poids (100 gr.)

d'organes, mais surtout à un nombre déterminé de feuilles (demi-feuilles : 50 ou 100).

a) En 1927, il a suivi les variations de la caféine avec l'âge :
1. Dans les feuilles de *Paullinia cuprana* : cette plante est une liane du bassin de l'Amazone dont les graines fournissent le guarana ; les feuilles jeunes et les bourgeons contiennent beaucoup de caféine, puis la quantité diminue et disparaît complètement dans les feuilles et les branches à la fin de la végétation. Si la plante, comme cela arrive souvent, ne porte pas de fleurs (et par suite de fruits), la caféine disparaît même totalement de la plante ; si celle-ci porte des fleurs et des fruits, la proportion augmente progressivement dans les semences jusqu'à la maturation : un bourgeon contient 1 mg. une jeune graine 5 mg. une graine mûre 30 mg.

2. Dans les feuilles de *Thea assamica*, WEWERS a constaté que la quantité relative de caféine (pour 100 feuilles) augmentait jusqu'à complet développement, pour diminuer ensuite et disparaître complètement dans les feuilles jaunies : 132 mg. au début, 462 mg., puis 5 mg. à la fin.

Avec les feuilles adultes de *Thea assamica*, l'auteur a cherché à savoir, par l'expérience suivante, ce que devenaient les alcaloïdes qui disparaissaient ainsi des tissus.

Principe : 1. Des feuilles de thé complètement développées, détachées de la plante, peuvent rester fraîches pendant plusieurs jours en plongeant la base du pétiole dans l'eau. 2. Placer certaines à l'obscurité, d'autres à la lumière pendant un même temps, et suivre les variations de la caféine et des matières protéiques, par comparaison avec des feuilles témoin analysées dès la cueillette.

Mode opératoire : a) Les feuilles séparées de la plante sont divisées en deux en suivant la nervure médiane : la moitié de feuille pourvue de nervure est aussitôt placée le pétiole dans l'eau et soumise à l'expérience, l'autre moitié servant de témoin est analysée ; b) 100 moitiés de feuilles sont placées pendant 10 jours à l'obscurité, 100 autres à la lumière en l'ab-

sence de CO_2 , 100 dernières à la lumière en présence de CO_2 pendant le même temps ; puis on dose la caféine dans ces moitiés débarrassées de la nervure médiane. Des diminutions ou des augmentations de caféine sont faciles à constater dans ces organes riches en alcaloïdes.

Résultats : 1. A l'obscurité, augmentation de la caféine : 27 % par rapport au témoin ; à la lumière sans assimilation : augmentation de 35 % ; à la lumière avec assimilation intense : perte de 20 %. 2. De plus, à une augmentation de caféine correspond une diminution de matières protéiques, et réciproquement, à une diminution de l'alcaloïde, correspond une augmentation de matières protéiques.

Ainsi 100 moitiés de feuilles ayant perdu 44 mg. de caféine se sont enrichies pendant le même temps de 12 mg. de matières protéiques.

Interprétation des résultats : 1. Les feuilles étant placées dans l'eau, l'augmentation azotée des matières protéiques ne peut provenir que de l'azote de la caféine perdue (1) ; l'alcaloïde ainsi constitué serait donc repris dans le cycle vital pour la synthèse des protéiques, peut-être après avoir été dégradé jusqu'au stade ammoniacal. 2. La caféine se forme au cours de la protéolyse, mais ce n'est pas un produit immédiat du dédoublement des matières protéiques, car l'hydrolyse artificielle de l'albumine de la graine de caféier n'en donne pas, c'est un produit secondaire.

En 1929, WEWERS publie les résultats de ses recherches sur la migration de la caféine dans les feuilles de maté (*Ilex paraguayensis*) plante qui présente le grand avantage sur les autres plantes à caféine d'avoir des feuilles persistantes pendant plus de deux ans et très riches en caféine. Dans une première expérience, il étudia les variations en alcaloïdes avec l'âge des feuilles (feuilles des bourgeons verts de moins d'un an, feuilles de plus de deux ans). Il constata une diminution de caféine en

1. Et non du sol, comme avait pu l'objecter Clautriau à l'expérience de Kellner, 1883.

valeur absolue % de feuilles et en valeur relative sur 100 feuilles dans les feuilles âgées : 0 gr. 98 d'alcaloïdes pour 100 feuilles d'une année contre 0 gr. 41 pour celles de deux ans, avec un pourcentage en poids d'organe de 0^e gr. 510 dans le 1^{er} cas, 0 gr. 221 dans le second.

Trois façons d'interpréter ces résultats d'après l'auteur :

1. La caféine est transportée des feuilles adultes vers l'écorce et s'y accumule : des vieilles branches vers les jeunes bourgeons en particulier vers les feuilles en voie de croissance. Il est facile de démontrer qu'il n'en est pas ainsi : dans ce cas la quantité de caféine devrait augmenter considérablement dans l'écorce, car le volume des feuilles dépasse de beaucoup celui de l'écorce. Or, les proportions trouvées sont très voisines : 1 gr. 10 % dans l'écorce de plantes vertes, 0, 85 % dans l'écorce couverte de liège.

2. La caféine pourrait se dédoubler en produits azotés gazeux, en particulier NH^3 qui serait expulsée par les stomates des feuilles. Cette explication qui n'est pas invraisemblable depuis les travaux récents de G. KLEIN et M. STEINER (1), 1928, provoqua une deuxième et nouvelle expérience de WEWERS pour savoir si, lorsqu'il y avait diminution en alcaloïdes dans les feuilles vivantes d'Ilex, il y avait en même temps dégagement d' NH^3 . Cette expérience est basée sur le *principe* suivant : aspirer l'air humide renouvelé pendant plusieurs jours autour d'une branche défeuillée de maté qui se développe dans une atmosphère close, et le recevoir dans un liquide qui permettra de titrer l'ammoniaque entraînée.

1. G. KLEIN et M. STEINER : Stickstoff basen inn Elweistaban höherer Pflanzen I ammoniak und flüchtige amine, Jahrb. j. Wiss. Bot., 68, 602-710, 1928. Ces deux auteurs ont montré par l'expérience qu'il s'échappait des feuilles et des fleurs d'un grand nombre de plantes (78 dicotylédones, 21 monocotylédones, 4 champignons) de l'ammoniaque à l'état gazeux qui ne pouvait être fixé chimiquement et était perdu pour la plante, que cette ammoniaque provenait surtout des acides aminés résultant de la dégradation des protéïdes, enfin que la proportion dégagée dans certains cas, pouvait être assez considérable puisqu'elle atteignait 6 mg. par kg. de plantes fraîches en 200 jours.

Technique opératoire : La partie supérieure d'un pied de maté portant 20 feuilles adultes fut mise sous cloche en verre à double tubulure et fermée hermétiquement. A l'aide d'une trompe à eau, on aspire lentement l'air rendu humide de la cloche, qui arrive de l'extérieur par un tube capillaire, barbote dans SO^4H^2 dilué pour se débarrasser de l' N^3H^3 atmosphérique. Cet air aspiré traverse un 1^{er} flacon laveur contenant de l'eau, puis un 2^e renfermant HCl dilué. Durée de l'expérience 7 jours.

Résultats : Le contenu des flacons laveurs est alcalinisé et distillé ; l' N^3H^3 est reçu dans $\text{SO}^4\text{H}^2\text{N}/10$ et titrée.

Après deux expériences, les quantités trouvées sont très faibles et considérées comme négligeables.

Conclusion : La disparition de l'alcaloïde ne peut s'expliquer par un dédoublement suivi d'un dégagement à l'état d' N^3H^3 .

3. La caféine peut être dédoublée en produits ammoniacaux qui restent dans la plante et rentrent dans le cycle vital, servant à la synthèse des matières protéiques : d'où une troisième expérience basée sur le principe de celle qu'il avait faite avec les feuilles de *Thea Assamica*, mais en opérant à la lumière ordinaire.

Il a obtenu les mêmes résultats que précédemment : augmentation de caféine à l'obscurité, diminution à la lumière diffuse, mais sans augmentation correspondante des matières protéiques.

Les conclusions sont semblables.

D'autre part, WEWERS, en 1929, reprenant les expériences (qu'il considérait comme incomplètes) de LOTZY, 1897, et de VAN LEERSUM, 1910, sur la migration des alcaloïdes dans les feuilles de quinquina, travailla sur de jeunes plantes de *Cinchona succirubra* cultivés dans les forceries du Jardin des Plantes d'Amsterdam. Il suivit les variations des alcaloïdes et des matières protéiques dans les feuilles à différents âges, tantôt sur les feuilles adultes et sur les feuilles âgées (tombées) par comparaison, tantôt sur les feuilles venant d'être cueillies et

dont un certain nombre de demi-feuilles étaient analysées aussitôt, les autres moitiés étant plongées dans l'eau pendant un temps variable et suffisamment long (180 heures par exemple). Il constata dans le 1^{er} cas une diminution de l'alcaloïde avec l'âge de la feuille, et, dans le 2^e cas, l'expérience étant faite à l'obscurité (coin obscur de serre), une augmentation élevée d'alcaloïdes correspond à une perte en matières protéiques.

Ce qui incitait l'auteur à conclure : 1. Que les alcaloïdes des quinquinas se produisaient dans les feuilles (à l'obscurité) au cours de la désagréation des protéiques, selon l'hypothèse de DE VRY ; 2. Deux cas pouvaient se présenter ; a) la migration était impossible dans l'écorce : exemple feuille coupée dont le pétiole est dans l'eau ; alors la teneur en alcaloïdes augmentait dans ces feuilles ; b) la migration pouvait se faire vers la tige et par suite vers l'écorce (cas des feuilles restant sur l'arbre) : alors la quantité diminuait dans les feuilles âgées et peut-être se produisait-il dans l'écorce une transformation des alcaloïdes amorphes des feuilles en alcaloïdes cristallisables : quinine et dérivés.

4. — *Variations dans les fruits* : a) CLAUTRIAU, en 1892, a étudié les variations que subissent les alcaloïdes et les matières protéiques dans la capsule de pavot. — Dans ce végétal, il faut que la plantule ait atteint 0 m. 10 de longueur pour commencer à avoir des alcaloïdes. A partir de ce moment la richesse va en augmentant jusqu'à ce que le fruit (capsule) arrive à sa taille définitive : alors il en contient une quantité importante. Puis, pendant tout le temps de la maturation des graines, les alcaloïdes diminuent progressivement et, quand la capsule est mûre, ils ont complètement disparu (1).

Expérience de CLAUTRIAU : il a dosé les alcaloïdes et les matières protéiques, d'une part, dans des capsules venant d'atteindre, sur la plante, leur taille définitive ; d'autre part, dans

1. Primitivement de 0 gr. 0817 dans la capsule, la proportion tombe à 0 gr. 013, alors que dans les semences jeunes, la faible quantité de 0 gr. 039 % qui existait, disparaît totalement.

des capsules récoltées en même temps que les précédentes, mais maintenues pendant plusieurs jours dans une atmosphère humide et le pédoncule plongeant dans l'eau, de façon que la maturation des fruits puisse se faire en dehors de tout phénomène de migration.

Résultats : l'auteur a constaté pendant la maturité des graines qu'il y avait perte à la fois en azote alcaloïdique, en azote protéique et en azote nitrique (1). Donc l'alcaloïde n'a pas été utilisé pour la synthèse des matières protéiques dont la teneur diminue, puisqu'il y a perte d'azote sous les trois formes.

D'après CLAUTRIAU, l'azote doit se dégager dans l'air, mais c'est ce qu'il reste à démontrer. Si cela était acquis, ce dernier point très important pourrait expliquer beaucoup de faits concernant la variation des alcaloïdes, notamment la diminution des alcaloïdes que l'on constate lors de la dessiccation des végétaux. On a parfois attribué cette perte à une utilisation de l'alcaloïde par la plante qui continue à vivre pendant un court espace de temps.

« Si la remarque de CLAUTRIAU sur les capsules de pavot, dit encore GORIS, se vérifiait sur les feuilles et les tiges, les partisans de l'alcaloïde substance de déchet trouveraient là un excellent argument à l'appui de leur théorie. »

b. *Variations de la teneur en alcaloïdes dans les graines aux divers stades de la maturation.*

1) Cette question avait déjà été envisagée en 1905 par FELDHAUS ²⁶, les dosages avaient été effectués sur les graines de *Datura stramonium* : 1) *mode opératoire* : l'auteur a fait des dosages à quatre stades différents des graines : dans les semences très petites et blanches, puis à un stade plus avancé (semences de grandeur normale, mais encore blanches), puis un peu avant maturité complète, c'est-à-dire avant l'ouverture des capsules, enfin dans les fruits complètement mûrs.

2) Les *résultats* ont été les suivants : les semences ont suc-

1. La technique opératoire de l'auteur est décrite dans le travail de GORIS, 1914, p. 191.

cessivement donné, comme teneur en alcaloïdes % : 0 gr. 33, 0 gr. 54, 0 gr. 47, 0 gr. 48 ; le péricarpe 0 gr. 34, 0 gr. 28, 0 gr. 08 %.

3) *Conclusions* : FELDHAUS se trouve en droit de conclure que c'est pendant le stade de grande activité, c'est-à-dire quand la graine a atteint sa grandeur normale, mais avant maturité complète, que le pourcentage en alcaloïdes est le plus élevé.

Conséquence : cette conclusion de FELDHAUS est intéressante à considérer, lorsque pour les usages de la thérapeutique par exemple, on veut récolter des graines renfermant des alcaloïdes, soit pour l'extraction de ces principes actifs, soit pour l'utilisation des graines.

Mais pouvons-nous généraliser et dire que ce qui a été prouvé expérimentalement pour les graines de *Datura stramonium* peut s'appliquer indistinctement à toutes les graines de plantes à alcaloïdes :

Evidemment non ; en effet, CLAUTRIAU en 1906 avait montré, comme nous l'avons vu plus haut, que pendant la maturité des graines de pavot les alcaloïdes diminuaient pour disparaître à maturité complète.

Les expériences de FELDHAUS constituent, en somme, un fait isolé. C'est pourquoi nous les avons reprises sur les fruits de lupin, avec l'intention de savoir si les graines de cette légumineuse se comportaient de la même façon que celles du *Datura*.

b) *Variations dans les organes végétatifs et dans les organes reproducteurs, par comparaison.*

Variations saisonnières au cours d'une période entière de végétation :

1. FELDHAUS ²⁶, 1905, a suivi la variation des alcaloïdes : dans les différents organes du *Datura* depuis la graine jusqu'à l'apparition des semences de l'année suivante : maximum au moment de la floraison, c'est-à-dire pendant le stade d'activité vitale le plus élevé ;

2. J. CHEVALIER ²⁵, 1910, a suivi les variations de la spartéine dans le genêt à balai durant le cours d'une année et ses résultats ont montré nettement que cet alcaloïde se forme pendant la première période de la végétation, pour diminuer brusquement au moment de la floraison et de la formation des fruits, avec localisation dans ces derniers. L'auteur a trouvé en effet 6 gr. 80 % d'alcaloïdes dans la plante au moment de la floraison alors que plus tard la proportion baissait jusqu'au voisinage de 2 %, avec concentration des alcaloïdes dans les fruits qui pouvaient en renfermer jusqu'à 1 gr. 10 %.

« Mais qu'il y ait une diminution des alcaloïdes avec l'âge de la plante, disait GORIS en 1914, c'est incontestable; qu'une migration se fasse vers les organes de reproduction, c'est possible; qu'il y ait une transformation des alcaloïdes en matières albuminoïdes, rien ne le prouve. C'est une déduction qui vient naturellement à l'esprit, continue l'auteur, quand on admet le transport vers la graine. Mais jusqu'ici aucun fait n'est venu appuyer cette opinion. »

3. Les expériences de RIBERT ⁹, 1922, sur la belladone : racines, tiges, feuilles nous ont montré (voir p. 29) : 1° que, s'il n'y avait pas de variations dans les racines, par contre la proportion augmentait progressivement dans les tiges et dans les feuilles jusqu'à la fructification, et que, dans ces deux organes, la teneur % était très voisine; 2° que, dans les feuilles, la teneur en alcaloïdes et en azote protéique croissait parallèlement jusqu'à la floraison, puis diminuait progressivement.

CHAPITRE IV

VARIATIONS DE LA TENEUR EN ALCALOÏDES DANS LES DIFFÉRENTS ORGANES APRÈS UNE DESSICCATION DES PLANTES DANS DES CONDITIONS VARIÉES

1^o Modifications qui se produisent pendant la dessiccation des plantes.

Une plante qui vient d'être récoltée entière, est abandonnée à elle-même ; elle continue à vivre pendant un certain temps, elle vit à ses dépens en utilisant pour cela les matières nutritives qu'elle contient (matières hydrocarbonées par exemple), puis elle se flétrit (on dit qu'elle se fane) et finalement se dessèche. Pendant la dessiccation, longue agonie du végétal, des modifications chimiques se produisent ;

a) Dans une première phase dont la durée est variable suivant les espèces et qu'on appelle *phase de végétation intérieure*, il y a diminution de certains principes (ex. : principes actifs, alcaloïdes, glucosides) que l'on suppose transformés et détruits partiellement sous l'influence des ferments solubles : oxydases, hydrolases, catalases.

b) Dans une deuxième phase dite *phase de déshydratation*, l'eau de végétation est enlevée et, par suite, des modifications chimiques continuent à se produire dans la cellule ; certaines substances, primitivement séparées, sont mises en contact avec des ferments et les altérations se poursuivent.

Il y a donc une différence entre la composition chimique de la plante fraîche et celle de la plante sèche, différence qui, pour

certaines plantes médicinales, peut provoquer une variation dans l'action physiologique, exemple : avec la noix de kola.

2° *Moyens employés pour empêcher ou du moins pour réduire les transformations chimiques* : 1. Depuis longtemps on soupçonnait ces variations de composition et c'est ce qui explique la préparation en thérapeutique des alcoolatures avec des plantes fraîches. On sait actuellement que les ferments solubles, même en milieu alcoolique, mais à froid ne sont pas détruits.

2. La démonstration scientifique des transformations chimiques par les ferments solubles au cours de la dessiccation des plantes, a été donnée par BOURQUELOT (1) dans une série de travaux 1890-1900 relatifs aux altérations de certaines formes pharmaceutiques, en particulier les teintures, sous l'action des ferments oxydants.

3. Elle a abouti à une méthode particulière de traitement des plantes médicinales : *la stabilisation*.

a) *Son but* : détruire les ferments solubles qui, pendant la vie de la plante, président aux réactions biologiques et modifient pendant la dessiccation la nature des substances chimiques et leurs relations entre elles ;

b) *Les moyens* employés pour stabiliser les plantes sont peu nombreux : 1. — BOURQUELOT 1896, plongeait les organes végétaux dans l'alcool bouillant pendant 30 minutes ; il obtenait ainsi une préparation alcoolique stabilisée mais non une matière première stabilisée, car les principes actifs étaient dissous en grande partie.

2. — A. GORIS et ARNOULD, 1907, utilisaient la vapeur d'eau sous pression, à l'autoclave à 105°, méthode applicable à tous les organes résistants : racines, tiges, graines, fruits.

3. — PERROT et A. GORIS³³, 1909, modifièrent la méthode précédente :

a) *Principe* : au lieu d'eau ils employèrent des liquides à point d'ébullition inférieur à 100° : alcool, acétone.

1. A. GORIS, E. Bourquelot (notice biographique). *Bull. Sc. Pharm.*, t. 28, p. 305-339, 1921.

b) *Mode opératoire* : avec les vapeurs d'alcool sous pression, à l'autoclave à 105-110° et pendant un temps très court. Si l'opération était bien conduite, il ne sortait pas de suc des cellules végétales. On séchait ensuite à l'étuve.

c) *Application* : cette méthode était applicable, non seulement aux organes résistants, mais encore aux tissus même les plus fragiles : feuilles, fleurs.

d) *Avantages* : la stabilisation des plantes fraîches donne une matière première non altérée, ayant même composition que la plante fraîche, mais simplement privée de ferments. Or cette matière première peut être utilisée en thérapeutique pour préparer toutes les formes pharmaceutiques désirables (1).

3° *Les études sur les pertes en alcaloïdes pendant la dessiccation des plantes.*

Les plantes sont desséchées dans les mêmes conditions :

1° MESTAPA ³⁹, 1926, a étudié spécialement, après dessiccation, la diminution de la teneur en alcaloïdes dans certaines plantes : belladone, jusquiame, datura qui renferment des alcaloïdes fixes, cristallisables, oxygénés ; grande ciguë, nicotiane qui contiennent des alcaloïdes liquides, volatils, non oxygénés.

1. *Principe* : l'auteur a comparé la teneur en alcaloïdes dans les divers organes : racines, tiges, feuilles, semences mûres de ces différentes plantes, prises à l'état frais d'une part, séchées de l'autre. Il a répété ces comparaisons à diverses époques de la végétation de chaque plante.

2. *Conclusions* : 1. Tous les organes des différentes plantes perdent de leurs principes actifs pendant la dessiccation ;

2. Les pertes sont très variables suivant les différentes périodes de végétation de chaque plante ; d'une façon générale le déficit est d'autant plus élevé que la teneur en eau est plus grande.

3. Les plantes chez lesquelles le déficit est le plus élevé sont par ordre d'importance : jusquiame, datura, belladone, nicotiane, grande ciguë.

1. C'est la stabilisation qui a permis la préparation de nouveaux médicaments : les *Intraits* ou extraits physiologiques complets de plantes fraîches stabilisées.

4. D'après l'auteur, la valeur des pertes est très variable : 2 gr. 33 à 42 gr. 49 % de la teneur totale en alcaloïdes.

2° Dessiccation à l'air libre de plantes stabilisées et de plantes non stabilisées.

a) *Expériences de A. COLOMER Y. PUJOL (1), 1921 :*

I. — *Principe* : 1. Dessécher à l'air libre des plantes renfermant des alcaloïdes volatils : genêt, tabac. La dessiccation porte sur des lots préalablement stabilisés et sur des lots non stabilisés ;

2. Préparer des extraits alcooliques avec les plantes sèches ;

3. Titrer les alcaloïdes volatils dans les extraits et comparer les résultats.

II. — *Mode opératoire* : 1. — Avec le genêt :

a) *Procédé de stabilisation employé* :

1) La méthode GORIS et ARNOULD n'a pas donné de résultats satisfaisants : à la sortie de l'autoclave le genêt avait subi une véritable coction ; par dessiccation à l'air libre, il se couvrait d'une couche mucilagineuse rendant la dessiccation impossible.

2) La méthode PERROT-GORIS, à l'aide d'un seul autoclave, ne donna pas à l'auteur de meilleurs résultats : le séchage était rendu plus facile, mais la plante devenait inutilisable, car l'alcool lui avait enlevé une partie de ses principes actifs.

3) La même méthode modifiée fut, au contraire, excellente : l'auteur espagnol réalisa une bonne stabilisation en traitant la plante de même que les objets à stériliser dans l'étuve autoclave Adnet.

b) *L'appareil* était formé de deux autoclaves accouplés : le premier jouant le rôle de chaudière (et rempli à moitié d'alcool), communiquait à l'aide d'un tube flexible de cuivre avec le second, plus petit, destiné à recevoir les matériaux à stabiliser ; le genêt en petits fragments était réparti en petits paquets longs, entourés de papier filtre, et disposés verticalement pour

empêcher l'action dissolvante de l'alcool à la fin de l'opération.

c) *La technique* : les deux autoclaves sont en communication et l'alcool est chauffé pour chasser l'air de l'appareil. Puis on ferme le robinet de communication et le robinet purgeur situé au bas de l'autoclave jusqu'à ce que la pression atteigne 3 atmosphères. On rétablit la communication et on laisse les vapeurs alcooliques agir à une pression moyenne de 1 atmosphère 5, sur le genêt, pendant 4 à 5 minutes. Puis on arrête, on retire les matériaux pour les remplacer par d'autres jusqu'à épuisement du lot à stabiliser.

a) Les paquets retirés de l'autoclave étaient humides et le papier taché de vert, mais l'intérieur n'était pas altéré.

b) *La dessiccation* fut faite à l'air libre en même temps que celle d'un lot de genêt non traité. En séchant, le genêt stabilisé avait conservé sa couleur verte qui devenait plus foncée avec le temps ; le genêt normal au contraire jaunissait.

c) La préparation de deux *extraits alcooliques* donna des produits de même coloration, mais celui provenant de la plante stabilisée était plus aromatique.

d) *Titrage des deux extraits en alcaloïdes : spartéine*. — *Principe* : précipitation par l'acide silicotungstique, puis incinération du silicotungstate isolé.

2. — *Avec le tabac* : 1° même mode opératoire : 2° pendant la dessiccation, les feuilles stabilisées prirent une couleur verte de plus en plus foncée ; elles donnèrent un extrait également plus foncé. Les feuilles normales jaunirent.

III. — *Résultats* : a) *avec le genêt* : 1 kgr. de plante stabilisée fournit 0 gr. 076 de spartéine de plus que le même poids de la plante normale, soit une augmentation de rendement de 7 gr. 49 d'alcaloïdes pour 100 kgr. de plante ;

b) *avec le tabac* : 1 kgr. de plante stabilisée fournit 0 gr. 880 de nicotine en plus, soit une augmentation de rendement de 88 gr. d'alcaloïdes pour 100 kgr. de plante.

IV. — *Interprétation des résultats* : dans ces deux plantes : genêt, tabac, qui contiennent des alcaloïdes volatils, l'augmen-

tation constatée de ces derniers pendant la stabilisation, est due à la destruction des ferments. Spartéine, nicotine dans ces plantes se trouvent à l'état de sels fixes ; pour qu'ils puissent se volatiliser, dit l'auteur, il faut que leurs sels soient décomposés sous l'action des ferments : la stabilisation détruisant ces derniers empêche la décomposition des sels d'alcaloïdes, par suite la volatilisation des bases.

Nous pourrions ajouter que la volatilisation des alcaloïdes n'est pas nécessaire pour expliquer leur diminution et qu'une altération sous l'action des ferments, suivie d'une décomposition partielle suffit.

V. — *Conclusion de l'auteur.* — 1. La stabilisation exerce une influence très marquée sur le genêt et le tabac, caractérisée par :

1^o la différence d'aspect entre le végétal stabilisé et non stabilisé ;

2^o la différence de caractères entre les deux extraits ;

3^o la présence d'une plus grande quantité d'alcaloïdes dans l'extrait préparé avec la plante stabilisée, au moment de son obtention (1).

2. La stabilisation est applicable aux plantes à alcaloïdes volatils aussi bien qu'aux plantes à alcaloïdes fixes.

b) *Expérience de H. S. VARCHOVICI, 1927.*

I. — *Principe* : 1. dessécher à l'air libre des parties de plantes (feuilles) renfermant des alcaloïdes fixes : belladone, juisquiamme. La dessiccation porte sur des lots préalablement stabilisés et sur des lots non stabilisés ; 2. préparer des extraits et des teintures avec les plantes sèches. 3. titrer les alcaloïdes fixes dans ces deux formes galéniques au cours de leur conservation et comparer les résultats.

II. — *Mode opératoire* : 1. *stabilisants* employés : l'auteur emploie en dehors de l'alcool (Procédé PERROT-GORIS), qui lui

1. Il eut été intéressant, ainsi que nous le verrons plus loin, de suivre les extraits au cours de leur conservation dans les mêmes conditions et de doser les alcaloïdes, après une année par exemple, dans ces préparations.

sert de point de comparaison, des corps gazeux comme acétylène, formène, des liquides susceptibles de se volatiliser à basse température comme tétrachlorure de carbone et chlorure d'éthyle.

2. Dans des *essais préliminaires*, il étudie leur action sur 2 ferments : invertine ou sucrase et émulsine, dans le but de savoir s'ils sont suffisamment efficaces pour détruire ces derniers et, par suite, pour permettre la stabilisation : l'acétylène paraît avoir un rôle stabilisant remarquable.

3. Ensuite il fait agir les stabilisants : alcool, acétylène, formène, tétrachlorure de carbone, chlorure d'éthyle sur 2 kgr. de feuilles de belladone et de feuilles de jusquiame. Son dispositif pour les quatre derniers produits est très simple et comprend un appareil générateur du stabilisant : ballon, cornue, récipient *ad hoc*, en communication avec un récipient contenant les feuilles à stabiliser. La stabilisation s'opère à la température ordinaire ou à celle du bain-marie suivant la nature des stabilisants et pendant 5-10 minutes.

L'auteur compare ensuite les plantes stabilisées au point de vue des modifications morphologiques externes et internes qu'elles ont pu subir.

4. Avec ces matières premières ainsi stabilisées et avec les feuilles séchées directement à l'air libre, il prépare des extraits et des teintures et dose ensuite les alcaloïdes qu'ils renferment en employant la méthode volumétrique du Professeur AL. JONESCO³²-MARTIU (1).

III. — *Résultats* : les titrages sont effectués au moment de la préparation, après un ou plusieurs mois et jusqu'à une année. Les résultats sont les suivants : a) la teneur en alcaloïdes dans les préparations avec matières premières non stabilisées diminue progressivement avec le temps de conservation, au point d'atteindre, environ un an après la préparation, une perte de 18-19 % (exemple : extrait de belladone 3 gr. 44 % au départ ;

1. Méthode volumétrique basée sur l'emploi du Réactif Mayer-Valser.

2 gr. 57 après un an ; différence 0 gr. 87, teinture de belladone : 0 gr. 037 % au départ ; 0 gr. 019 après un an : différence 0 gr. 018.

b) Au contraire, dans les préparations avec matières premières stabilisées, les diminutions de principes actifs avec le temps, si elles existent, sont très faibles : ainsi les plantes stabilisées à l'alcool (Procédé PERROT-GORIS), à l'acétylène et au tétrachlorure de carbone (en 5 minutes), donnent des préparations galéniques qui se maintiennent sans varier pendant les cinq premiers mois de la conservation ; on remarque ensuite une diminution d'alcaloïdes, mais très légère, beaucoup plus faible qu'avec le formène et le chlorure d'éthyle, et presque négligeable par rapport aux produits obtenus avec des plantes non stabilisées (ex. : extrait de jusquiame : avec alcool 0 gr. 751-0 gr. 610 après un an ; avec acétylène 1 gr. 01 — 0 gr. 95 après un an).

D'autre part, l'aspect des préparations est beaucoup plus favorable avec les seconds : en particulier les dépôts dans les teintures sont à peine sensibles après 6 mois et très colorés, alors qu'ils sont très abondants et presque incolores avec les plantes non soumises à la stabilisation.

IV. — *Conclusions de l'auteur* : 1. La stabilisation des plantes fraîches (feuilles) à l'aide d'agents stabilisants comme l'acétylène et le tétrachlorure de carbone, avec utilisation des matières premières ainsi obtenues à la préparation de certaines formes galéniques comme les extraits et les teintures, donne d'aussi bons résultats que celle obtenue avec l'alcool (Procédé PERROT-GORIS), ainsi qu'en témoigne le dosage des alcaloïdes dans ces préparations. Mais le tétrachlorure de carbone produit des modifications morphologiques dans la plante et son emploi nécessite de grandes dépenses ; tandis que, au contraire, l'acétylène présente les avantages suivants : bon stabilisant c'est-à-dire n'altérant pas le végétal et d'efficacité certaine, pratique à employer et économique.

2. Les préparations galéniques, obtenues avec des plantes

non stabilisées s'altèrent rapidement et peuvent perdre après une année 18-19 % d'alcaloïdes ; tandis que celles provenant de plantes stabilisées éprouvent des pertes insensibles relativement.

CHAPITRE V

VARIATIONS PROVOQUÉES SOUS L'INFLUENCE DE DIFFÉRENTS FACTEURS EXTÉRIEURS.

1. — Nutrition.

a) Variations avec les conditions de culture (1). — De nombreux dosages d'alcaloïdes dans les plantes adultes ont été faits, par exemple pour comparer la teneur en principe actif de deux échantillons, mais sans tenir compte des conditions de leur végétation. Un certain nombre, ceux concernant les plantes sauvages et les plantes cultivées par comparaison, nous intéressent ici : *a)* pendant longtemps on a cru que les plantes sauvages étaient plus riches en alcaloïdes que les plantes cultivées, par suite que la culture diminuait, chez les plantes médicinales, les propriétés thérapeutiques ; *b)* actuellement, on sait très bien que la teneur en alcaloïdes peut augmenter par la culture : expériences sur *datura*, *hydrastis*, *belladone*. Parmi les conditions culturales, on a envisagé :

1° *L'état physique du terrain* : sol friable ou argileux, sec ou humide, exposé à un vent chaud ou froid. D'après certains auteurs (RANSON ET HENDERSON²³) ces facteurs jouent un rôle aussi

1. De même que pour obtenir les meilleurs rendements avec les plantes de grande culture : céréales, betteraves, pommes de terre, vigne, on étudie les propriétés physiques et chimiques du sol, les facteurs climatiques, de façon à se trouver dans les meilleures conditions possibles, il faudrait pour la culture des plantes à alcaloïdes (dont la plupart sont des plantes médicinales) étudier également ces conditions et non seulement les variations en poids de récolte, mais encore celles de la teneur en principe actif pour chaque espèce.

important pour la culture des plantes médicinales à principe actif que celui des fumures artificielles. On peut facilement contrôler l'action produite par la composition d'un sol, son exposition, son irrigation, sur la récolte : mais l'étude scientifique n'a pas encore été faite sur les variations de teneur en alcaloïdes dans ces plantes sous l'action de ces facteurs.

2° *La constitution chimique du sol* : action des engrais et produits chimiques : ceux-ci jouent un très grand rôle ainsi que des essais faits récemment dans les exploitations agricoles de plantes médicinales l'ont démontré.

— J. CHEVALIER, en 1910, a étudié particulièrement l'influence des engrais sur les solanées : belladone, datura, jusquiame, de la maison Fouché ; d'après lui, l'emploi du fumier de ferme, du nitrate de potasse, a fait doubler le rendement en alcaloïdes, tandis que les fumures phosphatées et potassiques ont produit moins d'effet.

— F. RANSON et J. HENDERSON²⁸, 1912, ont étudié méthodiquement la valeur comparative de différents engrais (fumier de ferme, nitrate, cyanamide, scories basiques, superphosphates de potasse) sur la belladone de la maison Welcome : ils ont constaté une augmentation d'alcaloïdes sous l'influence des engrais.

— A. GORIS, 1913, a fait une semblable constatation sur l'influence des engrais : superphosphates et engrais radio-actifs dans la culture de la belladone de la maison Dausse à Etréchy.

— VREVEN et SCHREIBER²⁷, 1914, ont étudié l'influence d'engrais chimiques sur l'appareil végétatif de la belladone et sur sa teneur en alcaloïdes. Conformément à une vieille idée, ils pensaient que les belladones sauvages, ayant elles-mêmes fait élection de terrain, étaient plus actives que les belladones cultivées. Or les expériences de J. CHEVALIER citées plus haut, les incitèrent à essayer séparément l'emploi des engrais azotés, phosphatés et potassiques sur la belladone. Ils refirent alors, dans des conditions plus rigoureuses, les essais culturaux de J. CHEVALIER qui avaient été faits en ajoutant des engrais azotés,

phosphatés et potassiques à des sols déjà riches en ces engrais par suite des fumures : on ne pouvait suivre séparément l'influence des diverses matières nutritives sur la belladone, ni connaître la perturbation produite par l'absence ou l'insuffisance d'un élément.

Ainsi VREBEN et SCHREIBER ont fait leurs expériences en employant une terre limoneuse de consistance moyenne : l'alluvion de la Herck, terre pauvre en phosphate, azote et potasse facilement absorbable.

Les excellentes propriétés physiques de ce sol, dit BEAUSITE ³¹ p. 36, et la pauvreté en ces trois éléments essentiels : N. P. K., font que cette terre constitue un bon choix pour les recherches à effectuer (1). De leurs résultats, les auteurs tirent les conclusions suivantes : 1. au point de vue de la végétation, la belladone s'est montrée très sensible à l'action des trois engrais et surtout de la potasse. Le manque de ces éléments se traduit par une forte dépression dans le rendement ; 2. au point de vue de la teneur des feuilles en alcaloïdes (2), la belladone cultivée en terre pauvre en azote ou en phosphate renferme peu d'alcaloïdes dans ses feuilles ; la teneur augmente avec les matières azotées, mais elle diminue avec la présence des sels de potasse.

Donc, contrairement aux essais de J. CHEVALIER, les engrais phosphatés et potassiques employés simultanément par ce dernier auteur et qui avaient augmenté la teneur alcaloïdique des feuilles, agissent cependant en sens contraire quand on les utilise séparément.

Ces divergences ne nous étonnent pas outre mesure, car souvent la nature de l'engrais n'intervient pas seule et des réactions souvent complexes se produisent entre substances minérales dans le sol. C'est l'exemple du nitrate de soude qui rend la potasse assimilable pour les plantes, alors qu'elle ne l'était pas en son absence.

1. Nous renvoyons pour la technique opératoire et l'exposé des résultats aux travaux des deux auteurs ou à RIPERT, 1922, p. 54.

2. Ceux-ci sont calculés seulement en % du poids sec d'organes.

En résumé, d'après ces dernières expériences, il semble que, « l'indice d'une végétation luxuriante ne soit pas en relation directe avec la teneur en alcaloïdes » et contrairement à l'opinion de Sievers (1909), il n'y a aucune corrélation entre l'apparence physique de la plante et la quantité d'alcaloïdes contenue dans les feuilles.

— Ces résultats ont été confirmés par F. BEAUSITE ³¹ dans ses expériences sur l'action des engrais sur la belladone, 1919, qu'il effectua sur les indications de Goris, à Bagnères-de-Bigorre ; les graines semées sous châssis ont donné des plantes qui furent repiquées en différents terrains additionnés ici d'engrais variés : limon d'argile, terreaux de feuilles, de bois, de matières organiques, additionnés de différents fumiers.

D'après l'auteur : les fumiers augmentent considérablement le rendement en extrait et la teneur en alcaloïdes sans qu'il y ait parallélisme entre les deux augmentations. Les fumiers de différents animaux (cheval, vache, mouton) ont sensiblement la même action.

Les meilleurs rendements : 1. en extrait ont été fournis par les sols composés de terreau et de fumier : ce sont ceux qui ont donné la végétation la plus luxuriante (feuilles de 0 m. 40 de longueur) : exemple avec terreau de bois et fumier de cheval : 33 gr. 54 d'extrait pour 100 de poudre ; 2. en alcaloïdes ont été donnés par les terres franches argileuses ou les terreaux additionnés de silice : 0 gr. 60-0 gr. 66 % de poudre.

Le terreau sans silice et sans fumier donne la plus faible teneur alcaloïdique.

— MAURIN²⁹, 1925, étudie l'influence de certains engrais et agents chimiques sur la culture et la richesse alcaloïdique du *Datura*.

a) *Principe* : 1. ajouter au sol, dont l'analyse physique et chimique a été faite au préalable, un certain nombre d'engrais ou produits chimiques en proportions déterminées ; 2. au moment de la fructification, classer les lots de plantes d'après la hauteur des pieds ; 3. faire la récolte, sécher les plantes et doser

les alcaloïdes dans les feuilles et les semences. Faire un nouveau classement ; 4. comparer les deux classements obtenus et tirer des conclusions sur l'action de tel produit sur le développement végétatif et la teneur en alcaloïdes du datura.

b) *Technique* : 1. L'auteur tient compte : 1) de la richesse du sol en ses quatre éléments fertilisants : azote, phosphore, potassium, calcium, mais il n'indique pas la réaction du sol ; 2) de sa constitution physique : sol très siliceux. — 2. Il ajoute au sol, avant les semis, 11 engrais ou produits chimiques : engrais complet, fumier de ferme, superphosphate, sulfates d'ammonium, de potassium, produits chimiques susceptibles d'agir comme catalyseurs : fer, manganèse, silicium, uranium, soufre, aluminium. — 3. Façons culturales : deux sarclages, quatre binages.

c) *Résultats* : 1) *au point de vue développement végétatif* : lorsque les plantes sont en pleine fructification, le classement a lieu par rang de taille et d'après le diamètre des tiges et l'ampleur des feuilles : 1. les agents catalytiques comme manganèse, uranium sont capables d'activer nettement le développement du datura et se montrent supérieurs au fumier de ferme ; 2. aucun des produits ajoutés au sol n'a paru nuire au développement du datura, car le témoin est classé dernier dans la liste.

2) *Au point de vue richesse en alcaloïdes* : le dosage est effectué après la dessiccation des plantes, dans les feuilles et les semences ; le classement est fait d'après la teneur en alcaloïdes % ; il est très différent du précédent.

d) *Conclusions* : 1. le taux des alcaloïdes n'est pas fonction du développement de la plante : les variations dans la teneur en principe actif ne sont pas parallèles à celles du développement végétatif ; 2. certains engrais et produits chimiques : engrais complet, superphosphate de chaux, sulfates de fer et d'alumine ont une influence nettement favorable à la fois sur le développement de la plante et sur sa teneur en alcaloïdes ; 3. le sulfate de potasse augmente le développement végétatif, mais diminue la proportion d'alcaloïdes.

— A. GORIS et M. MÉTIN, 1924-1926 : *Les variations de la teneur*³⁰ *en alcaloïdes dans les racines d'Aconitum napellus* — Dans un travail d'ensemble ces deux auteurs d'abord, puis M. Métin ont envisagé les variations de teneur présentées par les racines suivant différentes conditions que nous aurons l'occasion de passer en revue successivement.

Leurs recherches, ainsi qu'ils le disent « ont eu comme point de départ le désir exprimé par le comité interministériel des Plantes Médicinales et l'Office National des matières premières, en vue d'arriver à une culture scientifique des aconits qui donnerait un produit d'une activité connue et sensiblement toujours identique ».

Étant donnée, en effet, la grande activité physiologique des racines d'aconit, il y avait intérêt à déterminer les variations de teneur comparativement dans le tubercule florifère et dans le tubercule de remplacement :

1. Avec la culture, et c'est ce que nous examinerons ici ;
2. Avec la provenance des tubercules ;
3. Avec l'altitude ;
4. Avec l'âge, c'est-à-dire suivant la période de la végétation de la plante ; c'est ce que nous verrons dans la suite.

La Pharmacopée française recommande de n'employer que les tubercules lourds, c'est-à-dire les tubercules de remplacement fournis par la plante sauvage et récoltés à la fin de la floraison, à l'exclusion des tubercules florifères beaucoup plus légers, par suite de la disparition d'une grande partie de leur réserve amyliacée.

La méthode de dosage que les auteurs donnent au début de leur travail est la suivante :

a) *Opérations préliminaires* : les tubercules sont séchés et pulvérisés sans résidus, la poudre est passée au crible métallique fin et séchée à 100° jusqu'à poids constant ; b) *Dosage* : principe :

1. Préparation d'un extrait mou par épuisement de la poudre avec de l'alcool à 70° additionné de 1 ‰ d'acide tartrique,

prélèvement d'une portion aliquote de la liqueur et concentration au bain-marie.

2. Le dosage des alcaloïdes est effectué d'après le procédé du Codex, c'est-à-dire par précipitation par l'acide silicotungstique, lavage du précipité avec de l'eau acidulée par $\text{NO}^3 \text{H}$ et incinération du sel d'alcaloïdes : le poids du résidu de $\text{SiO}^2 + \text{WO}^3$ est multiplié par un coefficient 0,795, déterminé expérimentalement par des dosages sur de l'aconitine commerciale pure.

1° *Variations avec la culture.* — 1) *Considérations générales :*

a) La culture est-elle susceptible d'augmenter la teneur en alcaloïdes comme cela se produit pour d'autres plantes médicinales, exemple : Belladone ?

b) Y a-t-il intérêt réel à faire cette culture et, dans ce cas, quelle méthode à préconiser : germination ou transplantation ?

L'observation a démontré : 1. que la germination de la graine d'aconit est capricieuse et la formation du bulbe très lente ; 2. que la transplantation d'un bulbe adulte, qui ne permet de récolter qu'un ou deux bulbes de même poids, ne paraît pas avantageuse.

Elle le serait : a) s'il était possible, par la culture, d'augmenter le nombre des tubercules lourds ou de remplacement ; b) ou si l'on pouvait récolter les bulbes à une époque déterminée de la végétation, exemple : au début de la floraison, de façon à garder pour l'usage pharmaceutique le tubercule florifère non encore épuisé et, pour la transplantation, les tubercules de remplacement. En un mot, comme le disent les auteurs, de faire un peu le contraire de ce que prescrit le Codex.

2) *Expériences* — A. — *Directives.* — 1. En 1924, les tubercules d'aconits sauvages de la montagne pyrénéenne (région de Payolle) furent transplantés dans des terrains travaillés et largement fumés avec du fumier de mouton.

Les uns dans la plaine d'Asti (550 m.) près Bagnères-de-Bigorre les autres sur les flancs d'une petite montagne dominant Bagnères, à 700 m. d'altitude, dans un sol constitué par un mélange d'argile et de sable.

2. En 1922, les tubercules de plantes cultivées furent arrachés vers la même époque où avait eu lieu leur transplantation et étudiés.

B. — *Résultats : 1. Variations de la teneur alcaloïdique*

a) les différences entre aconits cultivés et aconits sauvages récoltés à la même époque, c'est-à-dire après la floraison, ne sont pas bien sensibles : ex. : tubercules sauvages florifères : 0 gr. 296 % ; de remplacement : 0 gr. 718 % ; tubercules cultivés florifères : à 500 m. 0 gr. 129 % ; à 700 m. 0 gr. 325 % ; de remplacement : à 500 m. 0 gr. 740 % : à 700 m. 0 gr. 636%.

b) Si l'on fait la récolte avant la floraison, on constate que les radicelles, qui accompagnent les deux groupes de tubercules, sont les organes les plus riches en alcaloïdes, puisque l'on trouve pour l'altitude de 500 m. 0 gr. 880 % ; pour celle de 700 m. : 0 gr. 760 %. On aurait donc tort de les rejeter dans le produit commercial.

2. *Les modifications de la partie végétative* sont importantes :

1) la tige devient plus élevée 1 m. 50 à 2 m. au lieu de 0 m. 80.
2) les tubercules perdent leur forme de navet pour acquérir une forme ramassée en rognons. De plus, alors que dans les aconits de montagne le tubercule florifère ne donne qu'un seul tubercule de remplacement, dans les aconits cultivés, au contraire, on en trouve plusieurs (3-4 et même 10), ce qui permet une grande extension de l'habitat. Enfin, dans ces derniers, les radicelles sont beaucoup plus nombreuses.

3. Les graines des aconits de culture semblent avoir des aptitudes germinatives plus marquées que celles des aconits sauvages.

C. — *Conclusions* : D'après les auteurs, la culture n'augmente pas la teneur alcaloïdique des aconits, mais elle permet néanmoins une diffusion plus grande de la plante.

D'abord par transplantation, par suite de l'augmentation du nombre des tubercules de remplacement ;

Aussi par semis, grâce aux facultés germinatives que semblent acquérir les graines : avec cette réserve toutefois que, dans ce

dernier cas, la récolte ne pourrait se faire avant la 4^e année.

b) Expériences d'annélation ou de décortication annulaire.

a) *Principe* : il consiste à enlever un morceau circulaire d'écorce, non pas au sens botanique, mais au sens médical du mot, c'est-à-dire un anneau comprenant tous les tissus extérieurs au cambium.

b) *Conséquences* : ces incisions pratiquées sur les rameaux produisent des modifications physiologiques intéressantes :

1. Au-dessous de l'incision : suppression dans la tige, du courant descendant de sève élaborée, conduisant dans les parties inférieures les principes complexes de l'assimilation chlorophyllienne ;

2. Dans la partie supérieure à la décortication :

a) Accumulation d'amidon dans la tige, parce que les sucres ne pouvant descendre se concentrent dans les cellules en bordure de l'incision : d'où augmentation de la pression cellulaire qui se traduit (loi de PFEFFER) par une polymérisation de glucose en saccharose, puis transformation en amidon insoluble qui réduit automatiquement la turgescence ;

b) Accumulation des matières albuminoïdes dans les feuilles ;

c) *Que deviennent les alcaloïdes ?* — Quelques expériences ont été tentées pour le montrer :

A. — CLAUTRIAU³⁴, 1902, lors de son séjour à Java, pratiqua une série d'annélations sur le thé et sur le café : ces expériences lui permirent d'établir le rôle de déchet de la caféine. « Les expériences d'annélation sont facilement réalisables sur le caféier, car cet arbuste donne des rameaux opposés qui sont toujours très comparables entre eux : ils présentent un même développement et portent chacun un nombre égal de paires de feuilles. Par suite leur teneur en caféine est identique. Cette disposition très avantageuse permet d'anneler un seul rameau et de laisser l'autre intact, qui sert ainsi de témoin, et qu'on peut enlever pour l'analyse, soit au début, soit à la fin de l'expérience. »

CLAUTRIAU est arrivé aux résultats suivants avec des tiges de caféier et de théier :

Expériences faites à l'air et à la lumière, c'est-à-dire la plante pouvant assimiler ; il y a *diminution notable de caféine* :

Ex. : dans une 1^{re} expérience :

0 gr. 68 % dans les rameaux annelés, 0 gr. 97 dans le témoin

Dans une 2^e expérience :

0 gr. 81 % — 1 gr. 04 —

Dans une 3^e expérience :

0 gr. 20 % — 0 gr. 61 —

Cette diminution pourrait être le fait de l'utilisation de la caféine et de sa transformation en matière albuminoïde. Or le dosage de l'azote total par la méthode de DUMAS, le dosage de l'azote albuminoïde par le procédé de KJELDAHL, après séparation de la caféine par un traitement à l'alcool fort et à chaud, indiquent une diminution de ces deux azotes : ex. 1 gr. 98 % d'azote total dans les rameaux annelés, 2 gr. 68 % dans le témoin. Donc, on ne peut imputer la diminution de la caféine à une transformation de celle-ci en matière albuminoïde, puisque dans les rameaux annelés il y a en même temps diminution de l'azote total et de l'azote protéique. « On doit supposer, dit RIPERT en 1922, commentant les expériences de CLAUTRIAU et d'après ses expériences personnelles sur la disparition de l'atropine à la lumière que, chez le caféier, il y a également une décomposition des alcaloïdes sous une forme inconnue, probablement gazeuse. » Mais le départ sous cette forme reste encore à prouver expérimentalement (1).

B. — *Expériences de RIPERT*⁹, 1920 : a) sa technique : l'auteur a fait des décortications pendant deux années (1920-1921) à des époques différentes et à des hauteurs variables de la plante, soit sur la tige principale, soit sur des ramifications. L'anneau d'écorce enlevé variait d'épaisseur entre 5 et 10 mm.

1. De plus, n'oublions pas que les résultats de Clautriau sont rapportés à 100 gr. d'organe.

L'incision était faite au début de la floraison et non plus tôt, car les tissus ligneux, insuffisamment lignifiés, auraient été coupés au cours de l'incision, et la plante, même avec des tuteurs, aurait été brisée au moindre coup de vent.

b) *Résultats* : 1. — Localisation microchimique : augmentation des alcaloïdes au niveau de la blessure, sans doute à la suite du travail de cicatrisation qui, étant intense à cet endroit, amène la concentration des déchets ou des aliments.

2. Dosage des alcaloïdes, comparativement :

1^o Dans les feuilles venues sur les tiges décortiquées et sur les tiges normales : augmentation : ex. 0 gr. 240 % témoin, 0 gr. 263 % plante décortiquée.

2^o Dans la tige décortiquée et dans la tige témoin teneur légèrement moindre : 0 gr. 134 % dans la 1^{re} et 0 gr. 172 % dans la seconde.

3^o Dans les racines : le taux est à peu près semblable, 0 gr. 260 % et 0 gr. 274 %.

c) *Interprétation des résultats* : L'augmentation de la teneur dans les feuilles est logique; on sait que la décortication annuelle active la fructification et le développement des parties situées au-dessus de l'incision, en leur fournissant une surabondance d'aliments permettant, si le milieu est propice, une consommation intense : ainsi pour la belladone, les fruits en moyenne sont plus gros et leur nombre s'est accru.

d) *Conséquences pratiques* : D'après RİPERT, on pourrait obtenir ainsi des graines plus riches en alcaloïdes, si celles des plantes décortiquées conservaient les caractères morphologiques des parents.

c) *Suppression de nutrition azotée* : CLAUTRIAU a recherché l'influence des sels azotés sur la variation de teneur en caféine dans le thé. Son but était de savoir si, en cultivant la plante en milieu non azoté, « en affamant d'azote des rameaux de thé » comme il le dit, on pouvait constater la disparition et, par suite, l'utilisation de la caféine.

1. *Principe* : a) Faire développer dans des conditions variées

d'éclairement des rameaux de thé dans des solutions nutritives avec ou sans sels azotés ; *b*) doser les alcaloïdes dans ces rameaux, après quelques jours de culture ; *c*) comparer les résultats.

2. *Mode opératoire* : des rameaux de thé sont plongés dans un liquide de Sachs avec ou sans nitrate *a*) dans une première série d'expériences, ils sont mis à la lumière, mais à l'abri des rayons directs du soleil ; le sel azoté employé est le nitrate de potassium. L'auteur constate une légère augmentation de caféine après 9 jours dans les rameaux avec nitrate : 1 gr. 73 au lieu de 1 gr. 63 % ; 1 gr. au lieu de 0 gr. 83 % ; *b*) en opérant de même avec le nitrate d'ammoniaque, qui semble être l'aliment azoté préféré du thé, il obtient après 8 jours : 1 gr. 56 % de caféine avec azote, 1 gr. 35 sans azote ; *c*) enfin, en exposant les rameaux en pleine lumière dans une caisse vitrée où se produisait un dégagement lent et continu de CO_2 , pour augmenter l'assimilation, la proportion de caféine après 6 jours était de 1 gr. 25 %, pour la solution avec azote au lieu de 1 gr. 16 % pour l'autre.

3. *Conclusions de CLAUTRIAU* : *a*) la quantité de caféine n'est pas directement influencée par l'absence ou la présence d'aliments azotés (1) ; *b*) la faible diminution de caféine constatée n'est pas suffisante pour permettre de conclure que cet alcaloïde constitue une réserve azotée pour la plante.

d) De la nutrition des plantes au moyen des alcaloïdes. — L'étude de l'action qu'exercent les alcaloïdes sur les végétaux quand on cherche à les faire absorber par eux, a été entreprise depuis longtemps.

Il y a déjà plus d'un siècle, 1825, que l'on a tenté de faire vivre des végétaux supérieurs en présence d'alcaloïdes : *a*) au début l'on recherchait qu'elle était l'action toxique de ces substances ; *b*) puis la méthode s'est perfectionnée : *a*) au lieu de mettre en jeu des doses massives de toxique, on a ajouté gra-

1. Nous pourrions objecter que les essais ont duré trop peu de temps.

duellement l'alcaloïde de façon à le faire absorber peu à peu ; β) les solutions alcaloïdiques dans lesquelles les tiges coupées étaient disposées ont été remplacées par la culture en pot dans de la terre arable, puis en milieu stérilisé.

Et, peu à peu, la croyance à la nocivité des alcaloïdes vis-à-vis des plantes supérieures a fait place à une conception toute différente : celle de *l'utilisation possible des alcaloïdes dans des conditions déterminées*.

a) Parmi les nombreuses recherches du début, il convient de retenir celles de Mosso (1), 1894, qui détermina avec précision les doses d'alcaloïdes qui pouvaient produire une action excitante sur la germination : α) il prépara des solutions diluées depuis 2 % jusqu'à 1/10 de mgr. % de divers alcaloïdes ; β) il fit germer des graines de *Phascolus*, disposées au fond d'un vase sur du coton imbibé de ces solutions.

Résultat : les actions toxiques et activantes varient avec chaque alcaloïde. Ces expériences montrent nettement que les alcaloïdes employés à forte dose ont une action toxique, à dose très faible ils semblent pouvoir être absorbés et produire une action excitante sur la germination. Les quantités nuisibles ou utiles varient avec chaque alcaloïde et avec chaque plante.

Ainsi s'expliquent tous les résultats contradictoires obtenus antérieurement.

Peut-on faire pénétrer des alcaloïdes dans une plante autrement que par l'absorption par ses racines ? — 1. Des observations et des expériences antérieures vont nous renseigner sur cette question :

a) BOUCHARDAT (2), 1843, avait constaté que lorsqu'on fait agir des solutions d'alcaloïdes sur les racines des végétaux, ces alcaloïdes ne pénètrent pas dans les tissus, ne montent pas dans la plante, car il n'avait pu les retrouver dans aucune. Il concluait que ces corps devaient être transformés ou agir par simple présence : en opérant avec le chlorhydrate de morphine, il

1. Voir Ripert ⁹, 1922, p. 8.

2. Voir GORIS, 1914, p. 225.

remarquait en effet que ce sel « agit sur les racines, éteint la vie des spongioles et arrête l'absorption ».

b) Mais, si un alcaloïde est incapable d'être absorbé par les racines de la plante productrice et peut même avoir une action nocive sur ces organes et entraver leur fonction d'absorption, il n'est pas impossible lorsqu'il se trouve dans une partie déterminée de la plante, au voisinage des diastases susceptibles de le dédoubler, qu'il puisse jouer un certain rôle. CIAMICIAN et RAVENNA (⁵²) ont précisément cherché à mettre en évidence la différence d'action exercée par une substance chimique sur l'organisme végétal suivant qu'on essaye de la faire pénétrer par les racines ou qu'on l'introduit par une autre voie : exemple inoculation au moyen d'entailles pratiquées dans la tige (1). Or, dans la plupart des cas les auteurs ont constaté que les plantes productrices d'alcaloïdes sont empoisonnées quand on place au contact de leurs tissus les sels des alcaloïdes qu'elles contiennent.

Par contre, ils ont inoculé à 25 pieds de tabac une quantité considérable de nicotine (85 gr.) sous forme de tartrate acide : ils ont constaté que les plantes n'avaient pas souffert.

Donc, l'expérience a montré que si les sels d'alcaloïdes sont toxiques pour les plantes quand on les met au contact de leurs racines, le tartrate de nicotine n'exerce aucune action nocive quand il est inoculé directement à l'intérieur des tissus de tabac.

b) *Recherches plus récentes de L. LUTZ commencées en 1898* : dans une étude d'ensemble sur la nutrition des végétaux, à l'aide de substances azotées de nature organique, l'auteur a examiné successivement l'emploi comme substances nutritives : des ammoniacales composées (amines et sels d'ammonium composés), des amides, des nitriles, des alcaloïdes, de l'hydroxylamine. Il a résumé l'ensemble de ses travaux en 1905 et essayé

1. La technique des auteurs italiens est la suivante : pratiquer des cavités de 2 cm. de profondeur, de 6 cm. de longueur et de 1 cm. de largeur, les remplir du produit à expérimenter et les fermer à l'aide du lambeau d'écorce laissé adhérent à la tige ; une ligature et une obturation à la paraffine assurent le contact du produit introduit avec les tissus de la plante.

d'en tirer des conclusions générales ; n'envisageons ici que les travaux relatifs à la *nutrition à l'aide d'alcaloïdes*.

Toutes les expériences ont été poursuivies d'après un plan commun : l'auteur a fait agir les solutions d'alcaloïdes dans des conditions bien déterminées sur les *phanérogames*, les *algues* et les *champignons*.

1. — *Phanérogames* : a) *Principe* : 1. Faire germer des graines stérilisées dans des conditions d'aseptie aussi rigoureuses que possible), soit dans du sable silicieux, soit sur des billes de verre ; humecter ces supports avec un liquide nutritif dans lequel tout l'azote se trouve sous forme du corps à étudier : exemple additionné de solutions diluées de sels d'alcaloïdes ;

2. Prélever les plantes après un certain temps, les sécher, les peser et y doser l'azote total ;

3. Doser l'azote total dans les plantes développées dans les mêmes conditions, mais non en milieu azoté alcaloïdique.

La comparaison entre les deux chiffres renseignera sur le gain ou la perte en azote.

b) *Mode opératoire* : 1. Il est nécessaire d'opérer dans des conditions d'aseptie rigoureuse, de façon que les agents extérieurs ne puissent exercer aucune action pouvant fausser les résultats ; aussi les graines doivent être soigneusement stérilisées par séjour dans une solution aqueuse de bichlorure de mercure, et les milieux nutritifs, contenus dans des vases appropriés, doivent être convenablement stérilisés.

2. Après développement jugé suffisant les plantes étaient récoltées et analysées, ainsi que le milieu de culture (4).

c) *Résultats* : Lutz a constaté :

1. Que les alcaloïdes bases : exemple : caféine, se conduisaient comme des substances toxiques vis-à-vis des phanérogames, tandis que les sels d'alcaloïdes exemple : le chlorhydrate

1. Nous renvoyons pour la description de l'appareil, les modes et les expériences de culture à la thèse de doctorat ès sciences de L. Lutz, 1899, p. 20 à 24.

de caféine (à même dose de base) était simplement une substance inassimilable. SAWA, 1901, avait déjà trouvé que la caféine base était toxique pour les plantes supérieures à la dose de 1 ‰ et OVERTON, 1897 avait montré, en étudiant la pénétration des divers alcaloïdes dans les cellules végétales, que les sels d'alcaloïdes étaient moins toxiques que les alcaloïdes eux-mêmes ;

2. En présence de certains sels d'alcaloïdes : chlorydrates de quinine, de morphine, de cocaïne, sulfate d'atropine ; Lutz constata pendant le développement une perte d'azote, au lieu d'un gain. Or l'azote ne se dégageait ni sous forme de composés nitriques, ni sous forme de composés ammoniacaux, ainsi que l'avaient démontré des expériences précédentes ; mais, selon Lutz, il se dégagerait à l'état gazeux et cette perte d'azote serait due à des phénomènes de désassimilation, à une sorte d'auto-fermentation causée par une végétation prolongée de la plante en état de dénutrition azotée.

Tant que la graine germe, il n'y a aucune perte d'azote ; c'est quand ce stade est dépassé que l'azote disparaît, même en milieu stérile.

2. — Algues : a) Principe : ensemencement sur du liquide de MOLISCH additionné du sel d'alcaloïde à étudier.

b) Résultat : LUTZ n'a constaté aucun développement. Or des résultats différents ont été obtenus plus tard (1910) par COMÈRE : en ensemençant certaines espèces d'algues : *Spirogyra crassa* Kütz et *Ulothrix subtilis* dans les milieux nutritifs privés d'azote, auxquels il ajoutait progressivement de très faibles doses de sels d'alcaloïdes, il a réussi à faire prospérer ces cultures en présence de morphine surtout d'atropine, de cocaïne, de quinine ; par contre, les sels de strychnine se sont montrés nettement toxiques aux doses de 2 à 8 mgr. ‰ suivant les espèces.

Comment arriver à concilier ces deux résultats qui paraissent *a priori* contradictoires ? Il semble que Lütz utilisait des solutions qui, tout en étant très étendues, contenaient des doses

d'alcaloïdes considérablement plus élevées que les concentrations toxiques-limites observées par COMÈRE. Peut-être faut-il voir dans ces conditions de concentration trop forte les raisons de l'échec des tentatives de culture de LUTZ !

Cette remarque nous paraît très intéressante à envisager pour ceux qui auraient l'intention de reprendre l'étude de la nutrition des algues avec les alcaloïdes.

3. — *Champignons* : LUTZ a obtenu les résultats suivants :

a) Employés seuls comme source d'azote, les sels d'alcaloïdes ne pouvaient servir à la nutrition de ces végétaux.

b) Au contraire, si on les ajoute à un milieu nutritif contenant de l'azote directement assimilable, exemple : azotate d'ammonium :

1. Ce dernier agit comme agent d'entraînement et il se produit une large absorption de l'alcaloïde décelée par l'analyse du liquide de culture, exemple : 1 gr. 30 chlorhyd. cocaïne, 0 gr. 71 chlorhydr. de quinine en 16 jours.

2. Cette absorption est accompagnée d'une augmentation considérable de la récolte en mycélium.

3. Enfin, plus la grandeur moléculaire de l'alcaloïde est élevée, moins il est assimilable.

Des recherches sur la nutrition des champignons par les alcaloïdes avaient été tentées avant LUTZ, d'autres furent effectuées depuis :

a) Des expériences antérieures faites par CHARPENTIER, 1885, vérifiées par YASUDA, 1905, avaient montré que certains alcaloïdes (la cocaïne) employés à petite dose n'arrêtent ni la fermentation, ni la germination de la levure, tandis qu'à la dose de 5 % la fermentation est arrêtée, la levure restant vivante ; que d'autres (morphine) à 5 % n'arrêtent même pas la fermentation tandis que la strychnine à la même dose tue la levure.

b) Plus récemment : EHRLICH réussit la culture de plusieurs moisissures : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Oidium* sur diverses

substances azotées : nicotine, conicine, quinine, brucine, cocaïne, morphine.

FRIEDRICHS, 1914, ensemençant de l'opium lactosé avec diverses espèces d'*Aspergillus* constata que certaines attaquaient la narcotine et la codéine, sans toucher à la morphine ; que d'autres utilisaient uniquement cette dernière.

c) *Conclusions* : Il semble résulter de toutes ces expériences, que dans certaines conditions, les sels d'alcaloïdes peuvent être utilisés comme aliments par les plantes.

Hypothèse de Clautriau : interprétant les résultats des expériences de Lütz sur les champignons, le savant belge émit l'hypothèse que ces végétaux avaient besoin de commencer leur développement dans l'azote minéral pour acquérir un certain état qui leur permettait ensuite de détruire et d'utiliser la molécule alcaloïdique.

Alors LUTZ institua une nouvelle série d'expériences pour démontrer qu'il s'agissait bien d'un véritable entraînement :

a) *Principe* : 1° Cultiver des champignons dans un milieu nutritif contenant du nitrate d'ammoniaque ; 2° puis soutirer le 1^{er} liquide et le remplacer par un 2^e de composition analogue, contenant un sel d'alcaloïde en place du sel azoté minéral ; 3° faire des cultures comparatives dans un même milieu contenant à la fois les deux sels azotés, minéral et alcaloïdique ; 4° comparer les résultats de culture.

b) *Mode opératoire* : pour cela Lütz fit débiter des cultures de champignons dans du liquide de RAULIN renfermant du nitrate d'ammoniaque. Puis, quand le mycélium fut en plein développement, il soutira le milieu nutritif, lava aseptiquement et largement le mycélium (sans le sortir du flacon de culture) et remplaça finalement le 1^{er} liquide nutritif par un semblable dans lequel tout l'azote se trouvait à l'état de sel d'alcaloïde. Pour qu'un semblable essai fut concluant, il était nécessaire d'éviter la contamination microbienne et aussi d'éliminer, au moment du changement de milieu, toute trace d'azote assimilable provenant du

1^{er} liquide nutritif. Pour cela LUTZ imagina un dispositif particulier dont il donna la description en 1903 (1).

c) *Résultats* : Aussitôt, la végétation s'arrêta brusquement dans ce milieu, et l'analyse finale de la solution alcaloïdique montra qu'elle avait été à peine touchée par le mycélium en présence. Par contre, dans les milieux contenant l'azote à la fois sous les deux formes, la végétation se poursuivit normalement jusqu'à ce que tout l'azote ammoniacal fut transformé.

4. — *Conclusions* : Lutz conclut de ses expériences que l'azote minéral agit comme une sorte d'*agent d'entraînement* vis-à-vis de l'azote alcaloïdique ; que celui-ci n'est absorbé que tant qu'il y a de l'azote ammoniacal dans le milieu nutritif. Donc la présence de l'azote minéral semble nécessaire pour que l'alcaloïde puisse servir à la nutrition des plantes.

R. — LUTZ pensa que les phanérogames devaient se comporter comme les champignons, mais comme les besoins d'azote des végétaux supérieurs sont très faibles par rapport à ceux des champignons, les recherches dans cette voie sont beaucoup plus difficiles.

5. — *Conséquences* : il y avait ainsi une certaine analogie entre les *alcaloïdes* et l'*asparagine* :

a) On sait que l'asparagine se conduit comme une sorte de moyen terme entre la matière minérale et la matière organique : elle peut prendre naissance aux dépens des albuminoïdes et deux cas peuvent se présenter : 1. elle se trouve en présence d'un excès d'hydrate de carbone (sucre) elle régénère des matières protéiques souvent différentes de celles dont elle provient ; par suite elle disparaît des tissus ; 2 il y a pénurie des hydrates de carbone : ex. : dans le lupin, dont les graines ne renferment que des traces d'amidon, alors l'asparagine persiste et s'accumule dans les tissus. C'est ainsi que l'on constate sa présence dans le *Lupinus albus*.

1. L. LUTZ, sur le rôle des alcaloïdes envisagés comme source d'azote par les végétaux ; *Bulletin Société Botannique de France*, 1903, t. III, p. 118 ; Description de l'appareil servant à la culture des champignons inférieurs en faisant varier le milieu au cours de la végétation.

b) De même, les alcaloïdes ne seraient capables de se transformer en substances protéiques qu'en présence d'un excès de matières minérales azotées. Quand il y aurait pénurie de cet azote dans les plantes les alcaloïdes persisteraient.

LUTZ conclut donc que, « par analogie, on peut les considérer non comme des substances de réserve au sens propre du mot, non comme de simples déchets, mais plutôt que ce sont des termes intermédiaires entre la matière minérale et la matière albuminoïde, dont l'utilisation serait subordonnée à un afflux d'azote minéral, de la même manière que celle de l'asparagine est liée à la présence d'hydrates de carbone en excès ».

Il semblerait donc résulter des dernières conclusions de LUTZ, ainsi que le faisait remarquer GORIS, 1914, que les plantes à alcaloïdes venues en terrain pauvre (plantes sauvages) seraient plus riches en alcaloïdes que celles développées en sol riche, parce que dans le premier cas l'absence partielle ou totale de nitrates empêcherait l'assimilation des alcaloïdes qui s'accumuleraient dans les tissus végétaux.

Cette dernière opinion était admise autrefois, ainsi que nous l'avons vu plus haut (1), mais les expériences récentes de cultures des plantes à alcaloïdes avec des engrais (J. CHEVALLIER 1910) : l'application à la belladone d'engrais azotés doublant presque sa teneur en alcaloïdes, F. RANSON et J. HENDERSON, 1912; A. GORIS, 1913; WREVEN et SCHREIBER, 1911; F. BEAUSITE, 1919; MAURIN, 1925; A. GUILLAUME, 1927) ont montré une augmentation de la teneur en alcaloïdes avec l'action des engrais, notamment des engrais azotés.

Mais de ces expériences objectait LUTZ, en 1921, on tient compte seulement du chiffre absolu qui représente la teneur en alcaloïdes % de partie de plantes « sans envisager dit-il le rapport entre l'azote alcaloïdique, l'azote protéique et l'azote total de la même plante, cultivée avec ou sans engrais azoté minéral, et cela diminue singulièrement la valeur de l'argument ».

1. Variations avec les conditions de culture, p. 49.

Depuis 1924, d'autres cultures de plantes alcaloïdifères ont été faites et les résultats n'ont pas seulement été rapportés à 100 parties d'organe, chiffre absolu, mais ont été également calculés en valeur relative, c'est-à-dire par rapport à un pied, exemple : en 1922, GORIS et DELUARD en étudiant l'influence des radiations solaires sur le développement de la belladone et sur la formation des alcaloïdes; exemple : en 1927, dans nos expériences sur l'influence des engrais sur la culture du lupin, ainsi que nous le verrons plus loin : nos résultats sur la teneur en alcaloïdes ont été rapportés à la fois à 100 parties de feuilles ou de tiges sèches et à un pied moyen.

CHAPITRE VI

2. CONDITIONS D'ECLAIREMENT ET CLIMATOLOGIQUES

a) Influence de l'éclairement.

L'exposition au soleil semble jouer un rôle important dans la culture des plantes et la formation des alcaloïdes.

On sait que les ciguës qui croissent en Ecosse renferment moins d'alcaloïdes que celles qui poussent sur les bords de la Méditerranée, et par suite leur toxicité est moindre ; que les quinquinas cultivés en serre (c'est à-dire à l'ombre) renferment moins d'alcaloïdes que ceux qui poussent en pleine nature ; que la jusquiame d'Egypte est plus riche en alcaloïdes que la même espèce qui croît dans l'Inde.

Depuis que l'on s'occupe méthodiquement de la culture des plantes médicinales des données plus précises ont été fournies sur ce sujet.

1) D'après STENHOUSE³³², 1851, l'exposition au soleil paraît favoriser la production des alcaloïdes dans le genêt à balais (*Sarothamnus scoparius*), puisque celui-ci, récolté dans une plaine sablonneuse exposée à l'action du soleil (hauteur 0 m.80), a donné un rendement en spartéine et scoparine quatre fois plus élevé que la même espèce récoltée dans un endroit ombragé (1 m. 60 à 2 m. de hauteur) Il s'agit évidemment ici de la proportion par 100 gr. d'organe. Il eut été plus intéressant, physiologiquement, de la rapporter à un pied de genêt.

2) Exp. de RANSON et HENDERSON²¹, 1912 : 1. *Principe* : ils ont noté pendant 7 ans le nombre d'heures d'insolation des cultures

de belladone (et la hauteur des pluies) ; ils ont fait des cultures au soleil et sans engrais, et d'autres à l'ombre ; ils ont étudié les variations dans la teneur en alcaloïdes des feuilles et des tiges, en rapportant les dosages à 100 grammes d'organe sec.

2. *Résultats* : les auteurs ont constaté : 1) que les plus hauts pourcentages en alcaloïdes dans les feuilles et les tiges de belladone avaient lieu pendant les saisons les plus sèches et les plus ensoleillées : par année pluvieuse, les alcaloïdes pouvaient baisser de moitié ; 2) que, durant une saison, les conditions climatiques ne changeant pas, il n'y avait pas de variations importantes dans ces organes (feuilles et tiges) ; 3) que des belladones cultivées au soleil produisaient plus d'atropine % de poids d'organe que les mêmes plantes non insolées directement, les autres conditions de culture restant les mêmes ;

3) Exp. d'UNGER (1), 1912 : des feuilles de belladone poussées à l'ombre renferment moins d'alcaloïdes et moins de cendres que celles poussées au soleil ;

4) Exp. de GORIS et DELUARD³², 1922 : ces deux auteurs étudièrent le rôle de l'insolation sur le développement de la belladone et sur la formation des alcaloïdes, les autres facteurs restant les mêmes.

1. *Principe* : faire développer des lots de belladone dans des conditions différentes d'exposition : les uns au soleil, les autres à l'ombre. Déterminer les poids de récolte des feuilles, la teneur en alcaloïdes dans ces organes, le rendement en extrait sec. Faire les comparaisons % de feuilles sèches et par pied.

2. *Technique et résultats* : a) *Cultures* : un lot fut placé en plein soleil ; un autre six semaines à l'ombre, puis six semaines au soleil ; enfin un dernier lot entièrement à l'ombre jusqu'à la récolte : b) *Récolte des feuilles* : 1. époque de la récolte : celle ci fut faite pour chaque lot au début de la floraison. Avec les lots au soleil, il y eut 2-3 récoltes en 3 mois, c'est-à-dire pendant la saison ; à l'ombre, seulement une récolte.

1. UNGER, Zum Kapitel « Folia Belladonae ». *Apoteker Zeitung*, 27, p. 763, 1912.

c) *Rendement* : α) en poids sec de feuilles par pied de chaque lot : le rendement fut plus grand pour les pieds au soleil que pour ceux à l'ombre. La récolte totale au soleil fut le triple et même le quadruple de celle à l'ombre (2-3 récoltes au soleil pour une à l'ombre).

β) *En extrait sec* $\%$ de poids de feuilles : le rendement fut le même à l'ombre et au soleil.

d) *Teneur en alcaloïdes* : elle fut déterminée (par la méthode classique à l'ac. silicotungstique) sur les feuilles séchées, pulvérisées et tamisées sans résidu et pour 100 grammes de poids sec.

Les feuilles ensoleillées eurent presque le double d'alcaloïdes par rapport à celles ombragées : 0 gr. 39 $\%$ à l'ombre : 0 gr. 42 $\%$ à l'ombre, puis au soleil ; 0 gr. 52-0 gr. 65 $\%$ au soleil.

Donc, une plante (un pied) cultivée au soleil fournit une quantité d'alcaloïdes 6-8 fois plus grande que celle cultivée à l'ombre. Par suite le $\%$ d'alcaloïdes dans les extraits est plus grand pour ceux obtenus avec les feuilles ensoleillées.

3. *Conclusions* : 1) l'exposition au soleil favorise la production des feuilles de belladone : 2) les feuilles ensoleillées sont plus riches en alcaloïdes que celles ombragées (proportion $\%$).

Donc, il y a à la fois augmentation de la teneur en alcaloïdes en valeur absolue, c'est-à-dire par rapport à un même poids de feuilles (100 gr) et, par suite d'une récolte plus élevée en feuilles, augmentation en valeur relative par rapport au poids de récolte par pied.

« L'importance du rôle des radiations solaires est surtout mise en évidence, ainsi que le disent les auteurs, en comparant au cours d'une année les quantités de feuilles, d'extrait et d'alcaloïdes obtenues. »

5) RIEPERT, dans les essais de culture de Belladone qu'il a faits à Rennes, en 1920 et en 1921, pour suivre les variations des alcaloïdes dans la plante normale, a constaté lui aussi que le phénomène solaire faisait varier d'une façon intense la physiologie de la plante : pendant une période de deux mois restée au

beau fixe, les belladones formèrent des organes petits, mais travaillant avec le maximum d'intensité et produisant un taux très élevé d'alcaloïdes (0 gr. 903 % dans les feuilles, 0 gr. 787 % pour les tiges en juin, juillet, alors que le 1^{er} juin, elles ne donnaient que 0 gr. 532 % pour les feuilles et 0 gr. 498 % pour les tiges).

b) L'action des différentes radiations solaires.

Expériences de RIPERT, 1921, avec des écrans colorés.

Cette méthode est utilisée en physiologie végétale pour montrer que les radiations absorbées par la chlorophylle provoquent un dégagement d'oxygène, c'est-à-dire sont utilisées pour le développement de la plante. Son *principe* est le suivant : on ne laisse arriver sur des plantes vertes que certaines radiations à l'exclusion des autres qui sont absorbées dans leur passage à travers des liquides colorés contenus dans des cloches à double paroi entourant ces plantes : exemple : si la cloche renferme une solution monochromatique (1) rouge, la plante ne recevra que des radiations rouges (les autres radiations étant absorbées par la solution) ; alors la quantité d'oxygène dégagée sous la cloche pendant la durée de l'expérience sera due à la seule action de ces rayons.

1^o *Première expérience préliminaire*, en avril, sur *Solanum dulcamara*, derrière des écrans colorés constitués soit par une solution de bichromate de potasse, soit par une solution de sulfate de cuivre, en vue d'étudier les modifications anatomiques pouvant résulter de cette diversité d'éclairement ;

2^o *Deuxième expérience*, en mai, sur de jeunes belladones cultivées en pots :

a) *Principe* : faire développer la plante provenant de semis, pendant un certain temps, dans une atmosphère ne recevant

i. Ou sensiblement monochromatique.

que certaines radiations du spectre (soit les moins réfrangibles : infra-rouge, soit les plus réfrangibles : ultra-violet). Observer après ce temps, les modifications anatomiques et physiologiques survenues, c'est-à-dire se rapportant à l'appareil végétatif d'une part ; de l'autre, aux variations dans la teneur en alcaloïdes. Comparer avec deux témoins : le premier développé à l'air libre, le second dans une atmosphère et à la même température que précédemment, mais recevant toutes les radiations solaires.

b) *Technique opératoire* : 1° *Constitution des écrans* : chacun d'eux comprend deux vases en verre cylindrique, s'emboîtant l'un dans l'autre et maintenus écartés l'un de l'autre à 2 cm. à l'aide de couronnes de liège ; hauteur : 0 m. 40 : diamètre du vase inférieur 0 m. 20. Dans l'espace entre les deux cylindres sont les solutions colorées composant les écrans lumineux : en A, la solution de bichromate de potasse permettant le passage des radiations les moins réfrangibles ; en B, la solution de sulfate de cuivre permettant celui des radiations les plus réfrangibles ; en C, de l'eau distillée pour réaliser une atmosphère semblable à celle des deux autres, car la couche de liquide et les parois en verre permettent une température plus élevée à l'intérieur de ces appareils. Dans le vase central se trouve la plante en pot ; ce vase est fermé avec un bouchon de liège percé d'orifices permettant l'aération et l'arrosage quotidien

2° L'expérience fut rapide grâce à l'humidité et à la chaleur intenses dégagées dans ces atmosphères, et dura 25 jours (16 mai-10 juin).

c) *Résultats* : 1. — *Au point de vue végétatif*.

α) *Aspect extérieur* : en A, la tige atteint 0 m. 25 de longueur ; en B, elle demeure au stade de rosette.

β) *Structure histologique* : des coupes transversales furent faites : 1. dans les tiges ; en A, la tige est relativement dure, les assises secondaires très lignifiées ; en B, les parenchymes sont plus développés, les tissus ligneux peu différenciés :

2. Dans les feuilles : le tissu chlorophyllien est plus épais en

A qu'en B. L'échantillon du vase C (eau distillée) présente la structure d'une plante poussée rapidement dans un milieu chaud et humide : les parenchymes sont mous, la structure est intermédiaire entre A et B. Le témoin venu en plein air est petit, ligneux, les feuilles souples et résistantes, vert foncé, tandis qu'en A et B elles sont d'un vert assez pâle. Enfin l'acide oxalique est abondant en B, faible en A.

2. — *Au point de vue variations dans la teneur en alcaloïdes :*

RIPERT a dressé un tableau indiquant les teneurs des feuilles en alcaloïdes %, dans les quatre cas, avec les températures correspondantes ; puis une courbe, permettant d'interpréter plus facilement son tableau, et donnant les variations des alcaloïdes suivant les différentes variations solaires.

d) *Interprétation des résultats :* d'après Ripert il y aurait :

1. action accélératrice des rayons les plus réfrigents, c'est-à-dire de ceux de moins grande longueur d'onde, car il a obtenu 0 gr. 273 % d'alcaloïdes en B pour 0 gr. 218 % en A ; 2. influence de l'élévation de température puisque en C il a obtenu 0 gr. 286 % alors que le témoin venu à l'air libre donne seulement 0 gr. 190 % différence : 0 gr. 096.

Il semble, à notre avis, que les écrans colorés n'ont pas augmenté la teneur en alcaloïdes, puisque c'est en C, écran d'eau pure, recevant toutes les radiations solaires, que l'on a obtenu la plus forte teneur en alcaloïdes : 0 gr. 286 %. L'élévation de température (de 32° à 43-45°), ayant pu accélérer notablement les échanges vitaux, a produit vraisemblablement cette augmentation de 0 gr. 096 que l'auteur a notée.

3. — *Troisième expérience*, en juin : pour préciser l'action des radiations solaires. — a) *Principe* : obtenir des plantes à teneur alcaloïdique élevée, par un développement à l'obscurité ; puis les soumettre à l'action des différentes radiations solaires et déterminer, avant et après, la teneur en alcaloïdes.

b) *Technique* : faire développer sur une souche de belladone des pousses étiolées par un séjour de 24 heures à l'obscurité. Couper les tiges étiolées et introduire des lots égaux de plantes

dans les bocalx colorés précédents, l'extrémité des tiges plongeant dans l'eau distillée. Placer à la lumière pendant 10 jours. Comparer avec des témoins, en dehors des écrans, et non coupés. Doser les alcaloïdes dans les feuilles et les tiges et établir le pourcentage.

c) *Résultats* : la teneur en alcaloïdes a baissé après retour à la lumière, mais non uniformément. Il semble que les alcaloïdes disparaissent à la lumière, jusqu'à un certain état d'équilibre de la plante normale ; cette disparition serait due à l'action des rayons les plus réfrangibles du spectre solaire, d'après l'auteur.

c) Expériences comparatives à la lumière et à l'obscurité.

But de ces expériences : en faisant croître la plante à l'obscurité, elle commence par utiliser ses réserves nutritives et, très rapidement, par perdre l'amidon qu'elle contient. Donc si les alcaloïdes sont des substances de réserve au même titre que l'amidon, ils devront disparaître en même temps que lui. En opérant comparativement avec des plantes développées à la lumière, on pourra s'en rendre compte.

Principales expériences effectuées : 1. CLAUTRIAU ³⁴, 1902, sur plantes à caféine : *Coffea liberica* Hiern, *Thea sinensis* : après des cultures de 26 jours à l'obscurité, il constata, par des dosages d'alcaloïdes, que la caféine n'avait pas disparu, mais plutôt augmenté : ainsi avec le café la proportion qui, au début, était de 0 gr. 50 % passait à 0 gr. 60 % ; avec le thé elle variait de 1 gr. 59 % à 1 gr. 61 %.

2. LOTSY ³⁵, 1898, sur *Cinchona succirubra*, TUNMANN ET ZEUGER ³⁶, 1910, sur *Erythroxylon coca*, ont constaté par des recherches microchimiques que le séjour à l'obscurité faisait disparaître l'amidon mais non les alcaloïdes.

3. MAC IVOR, 1890, sur les Cinchonas, a constaté une augmentation des alcaloïdes à l'obscurité justifiant ainsi la pratique du « moussage ». Les alcaloïdes tels que la quinine, formés dans

les feuilles descendent par le liber : l'air et la lumière les oxydent : transformation en cinchonine. Or le moussage empêche l'altération et permet de retirer de l'écorce surtout de la quinine.

Inversement, la lumière altère les alcaloïdes des quinquinas : PASTEUR, en 1853, a montré la coloration à la lumière ou à la chaleur des solutions d'alcaloïdes de ces plantes (formation de rouge de quinquina).

Or, le problème général du rôle de la lumière par rapport à la formation des alcaloïdes n'est pas encore résolu.

4. Les expériences de RIBERT ⁹ sur la belladone, 1921, ont eu pour but de contribuer à sa solution :

a) *Premier groupe d'expériences sur les premières pousses normales* : 1) *Principe* : placer des jeunes belladones au stade de rosette pendant 39 jours à l'obscurité ; examiner la plante au point de vue végétatif ; au point de vue teneur en alcaloïdes % et en albuminoïdes % dans les feuilles ; comparer avec un témoin à la lumière.

2) *Technique* : des jeunes belladones sont abritées de la lumière par de grandes caisses en bois dont les jointures sont recouvertes de lattes et le tout est entouré de papier noir. Les dimensions de l'écran permettaient à la plante de vivre en atmosphère normale.

3) *Résultats* : 1. *Au point de vue de la végétation* : par suite d'un séjour prolongé à l'obscurité, la plante prend tous les caractères d'un végétal étiolé : modifications morphologiques dans les feuilles et dans les tiges. 2. *Au point de vue teneur en alcaloïdes et en azote albuminoïde*. 1. La localisation microchimique des alcaloïdes dans les tiges montrait qu'il y en avait à l'obscurité comme à la lumière ;

2. Le dosage des alcaloïdes dans les feuilles, les tiges et les racines : au début de l'expérience, à la fin, c'est-à-dire après 39 jours à l'obscurité, dans un témoin après le même temps à la lumière, montrait que :

a) Dans les *feuilles*, il y avait augmentation des alcaloïdes :

Par rapport au départ : 0 gr. 445-0 gr. 752 % : différence 0 gr. 307.

Par rapport au témoin : 0 gr. 540-0 gr. 752 % : différence 0 gr. 212.

b) Dans les *tiges*, la teneur est légèrement inférieure à celle des feuilles, mais suit les mêmes variations :

0 gr. 387 au départ, 0 gr. 713 à l'obscurité.

0 gr. 515 dans le témoin après le même temps.

c) Dans les *racines* : légère diminution que RİPERT explique en faisant remarquer que la teneur de la racine peut varier suivant ses parties et, pour l'analyse, il est très difficile de choisir des organes comparables, et même, en faisant un mélange homogène, on obtient des différences de l'ordre de grandeur qu'il a constaté :

Au départ 0 gr. 250, à l'obscurité 0 gr. 215, à la lumière 0 gr. 190.

3. L'auteur établit la relation entre les alcaloïdes % dans les trois organes ci-dessus et l'azote albuminoïdique % dans les feuilles : il constate une augmentation très grande de ce dernier, comparable à celle trouvée pour les alcaloïdes dans les feuilles ; il trouve au départ 2 gr. 11, à l'obscurité 4 gr. 90, à la lumière 2 gr. 37.

b) *Deuxième groupe d'expériences sur les repousses ou pousses de remplacement* : A) *Première partie* : 1. Les tiges sont coupées au ras du sol : un lot reste à la lumière, un autre à l'obscurité pendant 48 jours : les pousses de remplacement se développent dans les deux lots.

2. Prélèvement de la moitié des échantillons dans les deux lots : Localisation microchimique : présence d'alcaloïdes dans les 2 lots ;

Analyse chimique : 1) dosage des alcaloïdes dans les feuilles et dans les tiges : augmentation considérable des alcaloïdes à l'obscurité : différence de $0,972-0,532 = 0$ gr. 440 % pour les feuilles ; de $0,916-0,448 = 0$ gr. 418 % pour les tiges.

2) Rapport entre les variations des alcaloïdes et de l'azote

albuminoïde % dans les feuilles à l'obscurité : l'augmentation est parallèle.

B) *Deuxième partie* : RİPERT place la moitié des échantillons à la lumière pendant 13 jours : Localisation microchimique : les feuilles sont ramenées au même état ou à peu près que celles du témoin ; la teneur en alcaloïdes % dans les feuilles et dans les tiges diminue par suite de l'action directe des rayons lumineux ; elle passe de 0 gr. 972 à 0 gr. 548 % dans les feuilles, et de 0 gr. 916 à 0 gr. 802 % dans les tiges. Or, la diminution rapide des alcaloïdes ne peut être attribuée ici qu'à l'action directe des rayons lumineux (coefficient d'insolation).

4) *Conclusions* : les alcaloïdes augmentent à l'obscurité dans les feuilles parallèlement aux matières albuminoïdes.

Applications industrielles, d'après RİPERT. — Le développement des plantes à l'obscurité ayant permis de constater une augmentation appréciable des alcaloïdes qui peut aller du simple au double dans les feuilles, l'auteur a montré l'intérêt qu'il y aurait à se servir de ces plantes pour l'extraction des principes actifs :

a) *Avantages* que présentent le traitement des plantes étiolées pour l'extraction des alcaloïdes : 1. absence de chlorophylle qui gêne beaucoup l'extraction ; 2. grande économie de solvant pour l'extraction ; 3. simplification des opérations préliminaires : séchage, broyage qui porteraient sur de moins grandes quantités de matières sèches ;

b) *Inconvénient* provenant de la culture de la belladone à l'abri de la lumière. Il s'agirait de suivre la technique employée pour la production des plantes étiolées.

Remarque. — Il est très important de faire observer ici que RİPERT, dans ses expériences sur les feuilles de belladone à l'obscurité, a obtenu des résultats :

1. Qui concordent avec ceux de WEWERS sur les feuilles de plantes à caféine placées dans les mêmes conditions d'éclairement (et exposés précédemment, voir page 32) : augmentation des alcaloïdes ;

2. D'autres qui sont complètement opposés à ceux de WE-

WERS : ce dernier auteur avait trouvé une diminution des matières protéiques, RIBERT obtient une augmentation parallèle des protéiques et des alcaloïdes. Mais nous tenons à faire remarquer que les résultats de RIBERT se rapportent à un poids (100 gr.) d'organe tandis que ceux de WEWERS (et l'auteur hollandais insiste beaucoup sur ce point et avec raison) se rattachent à un nombre déterminé de feuilles, comme il serait d'usage de le faire en physiologie, et ceci est tout à fait différent.

d) Changements d'altitude :

α) F. BEAUSITE³¹, 1919, étudie l'action de l'altitude sur la végétation de la belladone et la teneur en alcaloïdes dans les feuilles : cultures faites à Bagnères-de-Bigorre depuis 500 m. (culture témoin) jusqu'à diverses hauteurs en terrains et expositions différentes dans la montagne, mais que l'auteur ne précise pas.

D'après lui, il semblerait que l'altitude ne favorisât pas la production des alcaloïdes dans la plante.

β) GORIS ET MÉTIN³⁰, 1924, ont étudié les variations de teneur alcaloïdique dans les tubercules d'*Aconitum napellus* suivant leurs provenances ; ils ont analysé des tubercules d'origine très différente, récoltés en été sur des plantes au même stade de végétation et provenant des plaines marécageuses de l'Aisne, des plateaux des Vosges, de l'Isère et de l'Ain et enfin des régions montagneuses des Pyrénées : altitude 550 m. à 1100 m. Ils ont constaté des différences considérables dans la teneur de ces aconits depuis 0 gr. 186 ‰ jusqu'à 2 gr. 971 ‰ : rapport de 1 à 30 ; les plus riches étant ceux des marais de l'Aisne, les plus pauvres ceux du plateau de l'Ain : ceux des Pyrénées titraient 0 gr. 718 — 0,661. D'où l'importance du dosage des préparations pharmaceutiques faites avec des matières premières présentant d'aussi grandes différences dans leur teneur en principes actifs.

A quoi sont dues ces divergences considérables ? — Aux conditions climatiques ? ou sont-elles le fait de caractères individuels ?

Pour le savoir, les auteurs se proposent de transporter les aconits de l'Aisne dans les Pyrénées et de ramener des aconits pyrénéens dans les marais de Fère-en-Tardenois.

β) M. MÉTIN ³⁰, 1926, a suivi les variations de la teneur en alcaloïdes dans le tubercule d'aconit avec l'altitude ; pour cela il a récolté à des altitudes différentes d'une même région, dans les Pyrénées, l'*Aconitum napellus* : à 550 m.-1.100-1.400-1900-2.000-2.500 m. (fort de Campbel) endroit le plus élevé où il a rencontré des aconits : il a constaté par des dosages que la teneur augmentait avec l'altitude : de 0 gr. 400 à 1 gr. % dans les tubercules.

CHAPITRE VII

B. — MIGRATIONS DANS LA GREFFE

En 1899, DANIEL considérait dans la greffe les deux individus associés comme exerçant l'un sur l'autre une influence réciproque et il tirait comme conséquence que des greffages pouvaient être améliorants ou non, ce qui présentait une réelle importance au point de vue de l'emploi des porte-greffes américains pour la reconstitution du vignoble français. C'est alors que l'on chercha l'influence réciproque du sujet et du greffon par des expériences de chimie végétale.

Si une substance organique bien définie : alcaloïde ou glucoside, n'existant normalement que dans l'une des deux espèces associées vient à être trouvée dans l'autre espèce après le greffage, c'est qu'elle a émigré de l'une dans l'autre et on aurait ainsi la preuve de l'influence du sujet sur le greffon ou réciproquement. GUIGNARD ⁴⁴, en 1907, eut l'idée d'expérimenter sur les plantes à glucosides cyanogénétiques qu'il choisit à cause de la facilité et de la précision de la recherche de l'acide cyanhydrique et de la facilité de son extraction : dans des séries d'expériences sur des légumineuses et sur des rosacées, il put constater que dans le greffage, ou symbiose artificielle, chaque individu conservait son chimisme propre et que les échanges de matières n'étaient possibles qu'entre plantes appartenant à des genres très voisins.

Quels résultats donneront les greffes de plantes à alcaloïdes ? — Des expériences déjà anciennes avaient été faites sur les quinquinas et avaient montré le passage des alcaloïdes par greffage. Mais les expériences les plus importantes ont

été effectuées sur les solanées chez lesquelles on rencontre des espèces ou des genres voisins dont les uns sont alcaloïdifères et les autres non : en 1908, LAURENT ⁴⁵ étudiait la migration des alcaloïdes par greffage avec belladone et tomate, en 1910, JAVILLIER ⁴⁶ avec belladone, tabac, pomme de terre, tomate ; MEYER ET SCHMIDT en 1909-1910, avec datura, tabac, pomme de terre, tomate.

Dans tous ces essais, des échanges nutritifs ont été souvent constatés, le passage des alcaloïdes a été observé, mais en très faible quantité et surtout au voisinage du bourrelet.

Des expériences récentes de greffage, toujours sur les solanées furent reprises par RIPERT ⁹ en 1920-1921 : il utilisait à la fois la localisation microchimique, le dosage des alcaloïdes et l'expérimentation physiologique pour mettre en évidence leur passage. Il expérimentait sur belladone, jusquiame, datura comme plantes à alcaloïdes et sur pomme de terre, tomate, aubergine, douce amère, morelle noire comme plantes sans alcaloïdes.

RIPERT constata que les alcaloïdes franchissaient le bourrelet de la greffe et cheminaient en faible proportion dans l'associé ; ils émigraient en plus grande quantité quand la belladone jouait le rôle de sujet ou hypobioté ; dans le cas de belladone greffon on peut produire, d'après l'auteur, une plus grande quantité d'alcaloïdes dans cette dernière en lui fournissant un sujet de plus grande capacité fonctionnelle ; conséquence : rechercher l'hypobioté améliorant susceptible d'augmenter chez les plantes à alcaloïdes leur teneur en alcaloïdes.

C. — Migrations pendant la germination des graines et le développement des plantules.

C'est la méthode employée dès le début des recherches sur l'utilisation des alcaloïdes ; les expériences ont été tentées déjà sur de nombreuses espèces de plantes. Mais ici les avis sont partagés :

a) *Principales expériences* : 1. HECKEL⁴⁷, 1890 : a) *but* : Savoir ce que deviennent les alcaloïdes pendant la germination ; b) *Mode opératoire* : l'auteur opère sur des graines à alcaloïdes différents : 1. du groupe de la purine : caféine de la noix de Kola ; 2. du groupe pyridique ou pyrrolique : strychnine, brucine, daturine, ésérine. Il dose ceux-ci dans la graine avant la germination, puis dans la jeune plantule ; c) *Résultats* : la teneur en alcaloïdes a diminué ; exemple : les graines de Kola mises à germer en serre chaude contenaient 2 gr. 37 % de caféine ; après un an, les cotylédons restant fixés sur la jeune plantule n'en renfermaient plus que 1 gr. 072 % ; après 2 ans 0 gr. 70 % et après 3 ans 0 gr. 21 % ; exemple : les graines de vomiquier, de datura perdent leurs alcaloïdes au moment de la germination ; d) *Conclusion* : les alcaloïdes se seraient transformés en substances assimilables sous l'influence de l'embryon, car les mêmes graines privées de leur pouvoir germinatif et enfouies dans la terre humide conservent longtemps leurs alcaloïdes.

A. BARTH, 1898, constate les mêmes faits avec d'autres graines.

Or l'alcaloïde a disparu en partie, mais rien ne prouve qu'il ait été utilisé par la plante pendant la germination.

2. Les expériences d'Heckel ont été reprises séparément par G. CLAUTRIAU⁴⁸, 1894, par FELDHAUS²⁶ 1903, et par O. TUNMANN⁴⁹ 1910, et ont donné des résultats complètement différents.

En particulier les expériences de CLAUTRIAU ont porté sur trois groupes de graines : les 2 premiers renfermant des graines à alcaloïdes ; le 3^e des graines sans alcaloïdes.

1^{er} groupe : germination à l'obscurité de graines mûres de *Coffea arabica* entre des feuilles de papier à filtrer maintenues humides ; les plantules sont ensuite placées sur des claies au-dessus d'un récipient contenant de l'eau. L'auteur dose la caféine dans les graines mûres, puis dans les plantules de 0 m. 10 : il constate une augmentation dans ces dernières : 1 gr. 433 ‰ de caféine au lieu de 1 gr. 17-1 gr. 20 ‰ dans les graines fertiles.

2^e groupe : germination de graines de solanées mydratiques : *Datura stramonium*, chez lesquels l'alcaloïde est localisé sous les téguments et, par suite, est facile à enlever. Or ces graines désalcaloïdisées par privation du tégument, germent plus rapidement que les graines normales et donnent des plantules dans lesquelles on peut déceler l'alcaloïde à l'examen microchimique.

3^e groupe : germination des graines sans alcaloïdes (tabac, pavot, thé) et à l'obscurité : il apparaît des alcaloïdes dès le début de la germination dans la plante étiolée, c'est-à-dire en dehors de toute assimilation. Ainsi donc, les alcaloïdes ne sont pas nécessaires à la germination, ils semblent pouvoir se former à partir des matériaux de réserve de la graine, en dehors de toute assimilation chlorophyllienne.

Comment alors expliquer que HECKEL ait constaté une diminution des alcaloïdes au moment de la germination des graines à alcaloïdes ?

On admet actuellement qu'il y a passage de l'alcaloïde dans le sol humide dans lequel les graines ont germé. En effet, les expériences de CLAUTRIAU sur le café, de FELDHAUS sur le datura et de TUNMANN sur la noix vomique et la coca ont démontré le passage d'une partie de l'alcaloïde dans l'eau de macération des graines : ainsi, le 1^{er} auteur a constaté que des graines de café, privées de leur pouvoir germinatif par exposition à l'air et laissées 2 mois entre des feuilles de papier buvard humide, avaient perdu plus du tiers de leur caféine et ne titraient plus que 1 gr. 70 % au lieu de 2 gr. 82 % : ce qui correspond bien aux expériences d'HECKEL. — Or, en interprétant les expériences de CLAUTRIAU sur les graines mûres de café (1^{er} groupe) on pouvait objecter que les germinations étaient faites à l'obscurité. Et d'après Pjeffer, on sait que l'asparagine s'accumule dans les végétaux en l'absence de lumière, car elle ne peut être utilisée par suite du manque d'hydrates de carbone. Peut-être en est-il de même de la caféine, ce qui expliquerait une plus forte proportion dans les plantules ! — CLAUTRIAU refit alors des germi-

nations de *Coffea* à l'obscurité, et, quand les plantules furent suffisamment développées, il fit l'analyse d'un lot avant l'étalement des cotylédons, puis laissa un second lot en pleine lumière jusqu'à étalement normal et coloration verte des cotylédons, ensuite il dosa la caféine. Or, en rapportant à 100 plantules, il trouva à l'obscurité 0 gr. 302 d'alcaloïdes contre 0 gr. 384 à la lumière. Donc l'assimilation augmentait plutôt la proportion de caféine. Celle-ci n'était pas utilisée pendant la germination pour le développement de la plante puisque la quantité que contient chaque plantule, ne diminue pas, mais va, au contraire, en augmentant.

De même, FELDHAUS a montré que les semences de datura qui titraient primitivement 0 gr. 42 % d'alcaloïdes, n'en contenaient plus que 0 gr. 23 % après macération de 24 heures dans l'eau distillée ; par contre ce dernier liquide avait une teneur élevée en alcaloïdes (0 gr. 22 % rapporté au poids des graines) : enfin TUNMANN a observé que des semences de vomiquier mises dans des pots, sous une couche de terre de 5 cm. perdaient de leurs alcaloïdes dans les proportions suivantes : après un mois 0 gr. 69 %, après trois mois 0 gr. 91 %, après quatre mois 0 gr. 94 %. L'auteur n'a pu retrouver l'alcaloïde dans la terre humide qui, d'après lui, le retient énergiquement ; d'après OTTO il est détruit peu à peu dans le sol.

b) En 1927, expérimentant sur des graines de *Coffea arabica* au cours de la germination sur papier filtre et dans la terre de jardin, à l'obscurité et à la lumière, WEWERS ¹⁵ a obtenu des résultats de même sens que ceux qu'il avait trouvé en 1927-1929 avec les feuilles de plantes à caféine : *Paullinia*, *Thea*, *Ilex*, *Cinchona*, c'est-à-dire augmentation à l'obscurité, diminution à la lumière rapportés à 100 plantules : résultats opposés, à ceux de CLAUTRIAU pour la lumière. De plus WEWERS a constaté à l'obscurité qu'à l'augmentation de teneur en caféine correspondait une perte en protéique ; à la lumière les cotylédons verdissent rapidement et l'assimilation chlorophyllienne entrant en jeu la synthèse protéique se produit, mais ne peut cependant

contrebalancer la dégradation pendant la germination. Ceci permettrait de supposer, comme l'auteur l'a déjà dit pour les feuilles, que la caféine se forme dans la protéolyse, qu'elle intervient peut-être dans la protéogénèse.

CHAPITRE VIII

LE RÔLE PHYSIOLOGIQUE DES ALCALOÏDES

L'étude des principes constituants non vivants de la vie cellulaire végétale : glucosides, tanins, alcaloïdes a été profondément marquée par les *conceptions finalistes* qui ont sévi en biochimie pendant le siècle dernier. C'est ainsi que : 1. on a représenté la cellule végétale comme douée de remarquables qualités de prévoyance et, ainsi, accumulant dans son intérieur des substances comme les alcaloïdes, dans le but de se défendre des animaux ; 2. on a assigné à ces constituants des plantes un but physiologique toujours bien défini : soit de réserve (substances utiles à la cellule) soit de déchet (substances inutiles ou nuisibles) ; 3. plus récemment, on leur a attribué le rôle actif d'hormone végétal.

Actuellement, un certain nombre de physiologistes, COMBES, WEWERS, etc. envisagent l'étude biologique des alcaloïdes non plus en vue de savoir le but physiologique possible de la substance, mais comme simplement le résultat de phénomènes physico-chimiques.

I. — Néanmoins, comme l'étude finaliste du rôle des alcaloïdes a été poursuivie depuis longtemps par un grand nombre d'auteurs, nous en ferons un rapide exposé, surtout avec l'intention de mettre en évidence et de discuter les expériences effectuées : ce sera l'objet de la première partie ;

II. — Dans une seconde, nous envisagerons les idées actuelles des biologistes relatives à l'étude physiologique des alcaloïdes.

I. — Les conceptions finalistes sur le rôle des alcaloïdes dans la plante.

Quatre hypothèses ont été émises successivement pour expliquer le rôle biologique des alcaloïdes : ce sont des substances de protection, des substances de réserve, des substances de déchet, des stimulants chimiques particuliers du groupe des hormones.

1. L'alcaloïde serait une *substance de protection* de la plante contre l'attaque des animaux : mammifères herbivores, mollusques, insectes. En 1886, ERRERA⁵⁰ attirait simplement l'attention des botanistes sur l'efficacité d'un groupe de substances toxiques comme les alcaloïdes les glucosides, dans la défense contre les animaux. Ce fut surtout CLAUTRIAU, élève d'ERRERA qui, en 1891, soutint en la développant à l'excès l'hypothèse du maître ; il faisait même de la répartition des alcaloïdes dans les plantes un facteur de sélection naturelle : d'après lui, l'alcaloïde se localiserait de façon à assurer une protection efficace. Cette théorie finaliste est par trop simpliste et facile à réfuter : l'alcaloïde n'est pas créé uniquement pour protéger la plante.

2. L'alcaloïde serait une *substance nutritive ou de réserve azotée* : les arguments en faveur de cette conception appartiennent à trois groupes : 1^o la présence des alcaloïdes dans les régions où l'activité cellulaire est la plus grande, mais cet argument peut être invoqué aussi bien par les partisans de l'alcaloïde substance de déchet.

2^o La migration au cours de la végétation :

a) On sait que les alcaloïdes diminuent dans la plante au moment de la floraison et de la fructification. Or si l'alcaloïde est une substance de déchet non utilisable, pourquoi la teneur varie-t-elle au cours de la végétation et pourquoi, puisqu'il s'en forme sans cesse, la quantité ne va-t-elle pas en augmentant mais au contraire diminue après la floraison ?

b) C'est vrai, mais cela ne démontre pas expérimentalement que l'alcaloïde est utilisé par la plante : on a émis alors l'hypothèse que les alcaloïdes, lorsqu'il y a diminution ou disparition dans les tissus chez des plantes qui en contiennent normalement, rentraient dans le cycle vital et servaient à la synthèse directe ou indirecte des matières protéiques.

Jusqu'alors quelques auteurs seulement ont répondu à cette hypothèse et deux groupes de solution ont été donnés.

1) CLAUTRIAU ²⁴, 1892, a étudié les variations que subissent les alcaloïdes et les matières protéiques dans la capsule du pavot au cours de sa maturation et il constata qu'il y avait perte à la fois en azote alcaloïdique, en azote protéique et même en azote nitrique. Et d'après l'auteur, l'azote devait se dégager dans l'air.

D'autre part, nous avons vu que dans ses expériences d'annélation à la lumière sur les tiges de thé et sur celles de café, CLAUTRIAU, 1906, avait constaté à la fois une diminution de la caféine, de l'azote total et de l'azote protéique.

RIPERT ⁹, 1922, dans ses expériences sur les belladones a étudié comparativement les variations de teneur en alcaloïdes et en matières protéiques dans les feuilles pendant la végétation normale, et il a constaté une augmentation parallèle des deux jusqu'à la floraison, suivie d'une diminution progressive des deux après.

D'autre part, dans ses expériences de 1921 sur la culture de la belladone à l'obscurité, il a constaté également une augmentation parallèle des alcaloïdes et des matières protéiques dans les feuilles.

Les résultats d'expériences des deux auteurs précédents ne semblent donc pas favorables à l'idée d'une synthèse des matières protéiques aux dépens des alcaloïdes.

2) Par contre, les expériences récentes de WEWERS ¹⁵ et ¹⁶, 1927-1929, sur le rôle des alcaloïdes dans les feuilles de plantes à caféine : *Paullinia*, *Thea*, *Ilex*, *Cinchona*, effectuées surtout en vue de recherches de physiologie végétale (les résultats rapportés à

un nombre déterminé de feuilles et non à 100 gr. d'organes) ont fourni à l'auteur des résultats complètement différents ; en opérant dans des conditions bien déterminées, à l'obscurité et à la lumière, il a constaté dans le premier cas une augmentation d'alcaloïdes dans 100 feuilles, correspondant à une diminution des matières protéiques ; à la lumière en présence du Co^2 , il a obtenu l'inverse. Ce qui permettait à WEWERS de conclure que la caféine se formait au cours de la protéolyse et qu'elle disparaissait pendant la protéogénèse, servant vraisemblablement à la synthèse des protéiques.

Ayant cherché à mettre en évidence le dégagement d' NH^3 au cours de la diminution de la teneur en caféine, il n'avait pas obtenu de résultats satisfaisants.

Les expériences de WEWERS, 1927, sur les graines de *Coffea* au cours de la germination, à l'obscurité et à la lumière, lui avaient fourni des résultats semblables aux précédents et contraires à ceux de CLAUTRIAU, sur les mêmes graines.

Ainsi donc, les recherches de CLAUTRIAU sur la caféine du café, et sur les alcaloïdes du pavot, et de RIPERT sur les alcaloïdes de la belladone d'une part ; de l'autre celles de WEWERS sur la caféine du thé, du café, du maté, et sur les alcaloïdes du quinquina ont conduit à des résultats opposés au sujet de l'hypothèse qui nous intéresse à savoir : l'utilisation des alcaloïdes, au moment de leur disparition dans la plante, à la synthèse des matières protéiques.

« Il est indispensable, ainsi que le disait COMBES⁵¹ récemment, que des recherches analogues soient entreprises sur les divers groupes d'alcaloïdes, car les différences existant entre eux sont tellement profondes qu'on ne peut généraliser à l'ensemble des alcaloïdes les faits connus relatifs à l'un d'entre eux : ils suffisent à expliquer la contradiction existant entre les résultats obtenus par CLAUTRIAU et ceux de WEWERS. »

3) *Les expériences de nutrition des plantes au moyen des alcaloïdes* ont montré à LUTZ³⁷ que, chez les phanérogames en présence de certains sels d'alcaloïdes, il y a une perte d'azote

total au lieu d'un gain et que cet azote devait se dégager à l'état gazeux.

3. Les alcaloïdes seraient des *produits de déchets* comme « les scories du grand laboratoire chimique végétal » ainsi que l'écrivaient CIAMICIAN et RAVENNA¹² en 1912.

Les arguments en faveur de cette hypothèse soutenue par certains biologistes sont tirés :

1° Du mode de répartition particulière des alcaloïdes, localisés vers les tissus les plus extrêmes, c'est-à-dire en dehors des voies de transport : exemple épiderme, écorce. Cet argument est assez discutable.

2° De leur non utilisation : a) pendant la germination : c'était l'opinion de CLAUTRIAU : expériences avec des graines mûres de *Coffea arabica* à la lumière comme à l'obscurité : les plantules de 0 m. 10 de longueur renferment davantage d'alcaloïdes que les graines. Or, nous avons vu que WEWERS, en 1927, en expérimentant sur les mêmes graines et à la lumière, avait constaté une perte en alcaloïdes au moment de la germination (l'inverse à l'obscurité) : ses résultats étaient rapportés à 100 plantules comme ceux de CLAUTRIAU. D'après WEWERS la caféine servirait de réserve azotée dans la graine de *Coffea* : elle contient en effet 29 % d'azote, plus du double de l'azote des protéines retirées des mêmes graines.

Mais le choix de la caféine pour étudier le rôle des alcaloïdes n'est peut-être pas très heureux, car on sait que c'est un dérivé purique et que les nucléo-protéides peuvent en produire facilement. C'est pourquoi nous avons repris les expériences de germination de CLAUTRIAU et de WEWERS sur les graines de lupin renfermant des alcaloïdes à noyaux différents (pyridique) et qui ne sont pas en relation directe avec les protéiques :

b) Dans les expériences d'annélation à l'obscurité (ou à la lumière mais sans CO_2) CLAUTRIAU a constaté une augmentation d'alcaloïdes correspondant à une utilisation des réserves, c'est-à-dire à une perte en matières protéiques.

c) Au cours de la végétation normale : nous avons vu précé-

demment les résultats différents trouvés par CLAUTRIAU et RIPERT d'une part et d'autre part par WEWERS.

d) Quand la plante vit dans un milieu privé de substances azotées, l'alcaloïde qu'elle renferme : caféine, ne diminue pas.

A la fin de son travail, en 1922, RIPERT chercha, par des expériences irréfutables, à démontrer que l'alcaloïde jouait le rôle de déchet chez les végétaux :

I. — *Culture dans l'eau distillée* : a) *But* : si, par l'expérience, on pouvait parvenir à augmenter ou à diminuer la teneur en alcaloïdes dans les plantes (alors que les facteurs biologiques restent normaux (toute nutrition minérale étant supprimée), on prouverait alors le rôle de déchet ou d'aliment de l'alcaloïde.

b) *Principe* : placer une plante vivante dans des conditions de jeûne absolu pendant un certain temps : titrer l'alcaloïde et l'azote albuminoïde dans les feuilles chez un témoin au début de l'expérience, dans la plante à la fin de l'expérience et comparer les résultats.

c) *Technique* : 1. la plante (belladone) est cultivée en pleine terre : au début de la végétation la couper au ras du sol ; 2. dans certaines tiges titrer les alcaloïdes ; introduire les autres tiges dans des bocaux de quatre litres contenant de 500 cmc. d'eau distillée, entourés d'un manchon de papier noir les abritant de la lumière (pour empêcher le développement des algues qui pourraient venir troubler les conditions de l'expérience) ; 3. placer les bocaux dans les mêmes conditions d'éclairement. De la sorte, les hydrates de carbone seuls peuvent continuer à se former ; les matières albuminoïdes ayant leur origine dans les nitrates du sol, et le milieu d'absorption en étant totalement dépourvu, ne peuvent se constituer par synthèse.

Donc, les matières albuminoïdes et les alcaloïdes formés antérieurement à la section doivent être transformés (détruits ou assimilés), d'où deux cas : 1^o si les alcaloïdes sont des aliments, leur proportion ne peut que diminuer ; 2^o si les alcaloïdes sont des déchets leur proportion ne peut qu'augmenter.

d) *Résultats* : 1^{re} expérience 1920 : teneur en alcaloïdes au

début de l'expérience (témoin) : 0 gr. 336 % ; teneur en alcaloïdes en fin d'expérience (durée 24 jours) : 0 gr. 491 % : différence 0 gr. 155 %.

2^e expérience 1921 : teneur en alcaloïdes au début de l'expérience (témoin) 0 gr. 462 % ; teneur en alcaloïdes en fin d'expérience (durée 57 jours) 0 gr. 532 % : différence en plus : 0 gr. 070 %.

Teneur en azote albuminoïde au début de l'expérience (témoin) 2 gr. 23 % ; teneur en azote albuminoïde en fin d'expérience (durée 57 jours) 1 gr. 98 % : différence en moins : 0 gr. 25 %.

Un tableau et une courbe permettent de saisir le sens et la valeur des variations chez les alcaloïdes et les matières protéiques.

c) *Conclusion* : sans alimentation minérale d'aucune sorte, la plante a continué à végéter, n'assimilant pas ses alcaloïdes et détruisant ses albuminoïdes. D'après RIPERT, la relation entre ces deux corps permet de conclure au rôle de déchet.

R. — L'examen de l'eau des vases ne révéla jamais la présence d'alcaloïdes.

II. — *Culture dans l'eau distillée et en atmosphère d'oxygène* :

a) *But* : supprimer comme plus haut toute nutrition minérale, mais produire une excitation momentanée de l'activité de la plante en atmosphère d'oxygène pur : une augmentation d'alcaloïdes prouvera le rôle de déchet.

b) *Principe* : placer la plante dans des conditions de jeûne absolu comme plus haut, de façon à la forcer à vivre sur ses aliments de réserve, mais aussi à les épuiser plus vite que dans la vie normale, car P. BERT a constaté que l'oxygène pur à la pression atmosphérique a sensiblement la même action que l'air comprimé à 5 atmosphères.

c) *Résultats* : comme précédemment RIPERT a constaté une élévation du taux des alcaloïdes : différence en plus de 0 gr. 231 % et une diminution du taux de l'azote albuminoïde : différence en moins de 0 gr. 85 %. Et il conclut de même au rôle de déchet des alcaloïdes.

A. PICTET ¹¹, l'auteur de l'hypothèse géniale sur la formation des alcaloïdes avait beaucoup contribué à faire adopter cette conception de l'alcaloïde-déchets et d'après lui :

1. Les plantes, qui ne possèdent pas d'organes d'excrétion comme les animaux, trouveront en elles-mêmes des moyens pour détruire leurs déchets 2. Ou bien, devant garder les produits d'élaboration de leur chimisme et condamnées à vivre ainsi avec eux, elles seront alors obligées de rendre ces produits le moins toxique pour elles en les transformant en substances peu gênantes. Et c'est ainsi que les alcaloïdes seraient issus de la méthylation et autres réactions secondaires des acides aminés, produits de la dégradation des matières protéiques.

Mais cette double hypothèse de A. PICTET sur le rôle des alcaloïdes a été battue en brèche par les expériences relativement récentes de CIAMICIAN et RAVENNA ¹² et ⁵² 1911-1923 :

1° Ces dernières montrent qu'on ne peut plus invoquer *à priori* que la plante est incapable de se débarrasser de ses déchets et substances gênantes et que la fonction chimique peut, chez les plantes, suppléer au manque d'organes spéciaux :

a) la plante peut éliminer les substances étrangères introduites artificiellement dans son corps *par oxydation* :

α) Expériences sur les feuilles de plantes mortes ; à l'aide de la purée de feuilles d'épinards très riches en oxydases ;

β) Expériences sur les plantes vivantes chez lesquelles l'oxydation est beaucoup plus rapide et profonde : *principe* : introduire par injection (inoculation) dans des plantes, certaines substances très stables au point de vue chimique, comme la pyridine (tartrate de pyridine ou de pipéridine) ; les expériences ayant porté sur le tabac, le maïs, le datura, le bulbe de jacinthe ont montré que ces plantes savent se débarrasser de substances indésirables en les transformant par oxydation en produits (acides gras inférieurs) qui pourront ensuite être utilisés par elle.

Elles peuvent donc transformer économiquement en aliments

ainsi que le disent les auteurs, les déchets de leur métabolisme.

b) la plante peut éliminer les substances étrangères volatiles, inutiles ou nuisibles, *par transpiration*.

1^{er} groupe d'expériences : *Principe* : inoculer à des plantes des sels d'alcaloïdes (pyridine, nicotine) et examiner si les alcaloïdes passent ou non en dehors des feuilles, entraînés par la vapeur d'eau. Les résultats sont négatifs avec le tabac. Mais cette méthode d'inoculation présente un inconvénient : les plantes sont en général des organismes à faible réaction ; aussi l'introduction de substances par injection, dans des plantes ayant acquis un certain développement, si elle n'entraîne pas la mort, ne détermine généralement pas de réaction suffisante.

D'où 2^e groupe d'expériences : *Principe* : au lieu d'inoculer les plantes, les arroser, après les avoir fait se développer dans des conditions particulières, avec une solution d'alcaloïdes et examiner les modifications produites sur les feuilles. En expérimentant sur *Phaseolus vulgaris*, les auteurs ont obtenu avec les alcaloïdes naturels et artificiels des phénomènes remarquables d'albinisme sur les feuilles : ils expliquent ces faits en supposant que les alcaloïdes exercent une influence sur la vie intime des plantes en particulier sur la fonction chlorophyllienne.

2^o La 2^e partie des déductions de PICTET a été également infirmée par l'expérience ; au cours des travaux de CIAMICIAN et RAVENNA, il est apparu un fait général touchant la toxicité des alcaloïdes vis-à-vis des végétaux : en comparant les effets produits sur les plantes par les substances fondamentales et par leurs dérivés, les auteurs italiens ont trouvé que la toxicité de la substance organique est exaltée par l'introduction de radicaux alcooliques (CH^3 , C^2H^5 , propyle) ou acides (acéthyle, benzoyle) d'OH, de restes aminés NH^2 ou iminés NH :

C'est ainsi qu'une substance peu nuisible ou inoffensive peut donner des dérivés nettement toxiques. Les exemples sont nombreux ; prenons-en un typique : les deux bases fonda-

mentales pyridine, pipéridine sont peu nocives : au contraire leurs dérivés : conine de la ciguë, pipérine du poivre, nicotine du tabac, sont très toxiques.

Alors CIAMICIAN et RAVENNA de conclure : la méthylation loin de rendre les produits de déchets inoffensifs, ainsi que le voulait PICTET, accroît au contraire leur toxicité. Mais, peut-être, contribue-t-elle à diminuer leur résistance à l'oxydation et par suite, dans ces conditions, à faciliter leur élimination par la plante ! Or, CIAMICIAN et RAVENNA en comparant la résistance à l'oxydation de certaines substances et de leurs dérivés méthylés (déjà connue par son action sur les plantules de haricot) constatèrent que les substances les plus nocives, par conséquent les dérivés méthylés, sont celles qui résistent le mieux à l'oxydation diastasique.

Mais alors, les chaînes latérales qui rendent les alcaloïdes plus nocifs pour les plantes, qui loin de diminuer leur résistance à l'oxydation l'augmentent au contraire et par suite s'opposent davantage à leur élimination, ces chaînes latérales doivent avoir un autre but. Et c'est à une nouvelle interprétation du rôle des alcaloïdes qu'ont été conduits CIAMICIAN et RAVENNA avec leur théorie des *hormones végétales*.

Pour eux, les alcaloïdes seraient chez les plantes des *stimulants chimiques* analogues comme action aux hormones animales ; les plantes, de par leur constitution, auraient besoin de stimulants encore plus variés que les animaux : leur organisation, en effet, n'est pas aussi différenciée, et elles y suppléent par un chimisme plus perfectionné : les phénomènes chimiques doivent déterminer tous les actes de la vie de la plante.

Des raisons plaident en faveur de cette conception : en accordant aux alcaloïdes le rôle de stimulants chimiques on explique tout aussi bien que par les deux autres théories en présence :

1. la localisation de ces bases dans les différents organes, car on les trouve naturellement aux endroits de vive activité cellulaire ;

2. la migration et la concentration en certains points, exemple :

dans les graines chargées de la conservation de l'espèce; exemple : dans les endroits lésés où une défense et une régénération deviennent nécessaires : expériences d'annélation de CLAUTRIAU ;

3. l'excitation de la germination par de très faibles doses d'alcaloïdes ;

4. l'augmentation de la teneur en amidon chez le haricot sous l'influence de la théobromine (CIAMICIAN) ;

5. leur action pharmacodynamique à faible dose sur les animaux. Les alcaloïdes joueraient donc le rôle d'excitants chimiques non seulement sur les organismes végétaux, mais aussi sur les organismes animaux ;

6. la croissance de la plante et l'arrêt de son développement : la teneur augmente à mesure que la plante croît, pour diminuer ensuite avec localisation toutefois dans les organes de reproduction : fleurs d'abord, puis fruits, graines.

Mais, ainsi que le disait POLONOWSKI en 1924, avant que des expériences probantes ne viennent confirmer cette hypothèse de CIAMICIAN, nous devons considérer les alcaloïdes sinon comme des substances de déchet du moins comme des produits secondaires ne prenant qu'une part très indirecte dans les échanges nutritifs et dans la conservation ou l'évolution de l'espèce végétale.

Conclusions. — Aussi bien les deux grandes théories restées en présence : de l'alcaloïde substance de déchet, de l'alcaloïde substance nutritive, ne semblent être en désaccord que sur la valeur des mots : sur les faits, les partisans des deux théories sont actuellement d'accord.

En effet, le « mot déchet employé en physiologie, dit GORIS, peut être compris de diverses façons : c'est la substance devenue inutilisable et ne présentant plus aucun profit pour l'organisme qui l'a produite, ou bien c'est la substance éliminée d'un cycle de réactions mais qui peut rentrer dans un cycle de réactions nouvelles : exemple CO^2 est un déchet de la respiration, mais sans quitter l'organisme il peut rentrer dans le cycle de l'assimilation : exemple le S et le phosphore offrent des migra-

tions analogues ; ils entrent dans les molécules protéiques complexes et, lors de leur destruction, ils réapparaissent comme déchet sous forme de sulfates et de phosphates » (1).

Peut-être en est-il de même pour l'azote ! La plante à alcaloïdes puise son azote dans le sol sous forme nitrique ou ammoniacale ; cette matière première minérale est transformée par synthèse en aliment organique : la matière protéique. Lors de l'utilisation des aliments quaternaires la désintégration des albuminoïdes donnera comme terme intermédiaire : l'alcaloïde. Pour les uns ce serait un déchet non utilisable. Pour les autres cet alcaloïde ne représenterait pas pour la plante un azote définitivement perdu qui doit rester indéfiniment en dehors du cycle de la nutrition. En effet, dans des conditions déterminées (tout comme l'asparagine) il peut être absorbé et assimilé directement, c'est-à-dire il peut retourner à l'état de matière protéique : ce serait donc un *aliment occasionnel*. Ce n'est guère qu'une discussion portant sur la valeur d'un mot.

Donc, dans la vie d'une plante, il y aurait deux stades distincts d'évolution des alcaloïdes : un stade de production et un stade de disparition, les deux phénomènes pouvant se produire simultanément. Il résulterait alors, d'après GORIS, que la quantité d'alcaloïdes existant à un moment donné chez un végétal serait la différence entre la quantité d'alcaloïde formée et celle disparue.

Pendant le développement de la plante à alcaloïdes et jusqu'à la floraison, la production serait supérieure à la disparition ou à la destruction ; à partir de la fructification, ce serait l'inverse.

1. Pendant longtemps on a considéré les huiles essentielles comme des substances d'excrétion et, actuellement, grâce aux beaux travaux de CHARRABOT LALOUX et HÉBERT 1903-1907, on sait qu'elles sont utilisées par les plantes productrices. Il est donc difficile, dans l'état actuel de nos connaissances, de caractériser avec certitude un principe immédiat comme un déchet inutilisable. A mesure que nos connaissances se complètent, on constate que les corps envisagés comme tels deviennent peu à peu moins nombreux, ainsi que nous venons de le voir.

CLAUTRIAU a même admis que les différences de composition constatée entre espèces voisines sont dues à cette discordance entre la production et la disparition : si le premier processus est plus intense que le second, on aura des espèces riches en alcaloïdes ; si le second processus l'emporte, l'analyse pourra très bien ne pas déceler la présence d'alcaloïdes bien que la plante en ait fabriqué.

Alors dans ce cas, la formation des alcaloïdes serait un phénomène général s'étendant à toutes les plantes et non à quelques-unes.

II. — Comment on envisage actuellement l'histoire physiologique des alcaloïdes

« Les vieilles expressions d'alcaloïde déchet, d'alcaloïde substance de réserve, dit COMBES dans un travail récent⁵², expressions qui sont encore actuellement d'un usage courant en Biochimie végétale et portent l'empreinte finaliste, devraient être abandonnées parce qu'elles donnent, des corps auxquels on les applique, une idée fausse au point de vue biologique... »

Exemple : les déchets sont des substances qui s'accumulent dans certaines cellules ou qui sont rejetées hors de la plante ; en les désignant ainsi on suppose que la plante les accumule dans des cellules en vue d'en débarrasser le reste de ses tissus ou qu'elle les rejette également dans le but de s'en débarrasser. Or ces substances ainsi appelées sont des constituants cellulaires dont nous ne connaissons pas le devenir, et le terme de déchet ne sert qu'à voiler notre ignorance sur leur biologie...

Ces substances qui nous paraissent inutilisées dans certaines conditions, qui même pour certaines sont rejetées à l'extérieur, exemple : sucs, corps gras, substances minérales, peuvent être dans d'autres réemployées, et rentrer ainsi dans le cycle vital, c'est-à-dire dans le métabolisme cellulaire...

« En résumé, dit COMBES, les substances variées que nous

trouvons dans la cellule végétale n'y sont pas nées dans un *but*, en vue d'un rôle physiologique possible ; elles y sont apparues comme le résultat de phénomènes physico-chimiques. Etablir *l'histoire physiologique d'un alcaloïde* ne consiste pas à déterminer si la matière vivante l'a produit dans le but de l'utiliser immédiatement ou de le mettre en réserve pour une utilisation ultérieure ou s'il représente un déchet que la plante localise ou rejette pour s'en débarrasser, mais cette étude consiste à mettre en évidence les réactions physico-chimiques qui l'ont fait apparaître, l'influence qu'il exerce sur d'autres réactions, les transformations qu'il subit dans la cellule et le mécanisme biochimique de sa disparition.

Dans cette étude on ne se donne pas comme but de trouver *pourquoi* les substances apparaissent, *pourquoi* elles sont localisées dans une partie de la cellule, *pourquoi* elle disparaissent, mais il faut chercher à savoir *comment* elles apparaissent, *comment* elles interviennent dans la vie de la cellule, enfin *comment* elles se transforment et disparaissent. »

En un mot il faut penser en physiologiste et non en finaliste.

CHAPITRE IX

NOS RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LES LUPINS

Méthodes employées.

1. — Localisation micro-chimique : nous avons utilisé la technique générale indiquée par ERRERA, 1886, et qui est couramment employée à l'heure actuelle dans les laboratoires où l'on étudie les alcaloïdes dans les plantes.

Le *principe* de cette méthode qui permet de différencier les alcaloïdes des matières protéiques tous deux précipitables en brun kermès par le réactif à l'iodure de potassium iodé, est le suivant : les alcaloïdes sont solubles dans l'alcool tartrique alors que les matières protéiques ne le sont pas. Donc :

1^o Traiter les coupes par le réactif de BOUCHARDAT ; 2^o Traiter d'autres coupes provenant du même organe par l'alcool tartrique, puis par le réactif iodo-ioduré de BOUCHARDAT ; 3^o examiner par comparaison les deux séries de coupes : si le tissu examiné renferme uniquement des alcaloïdes le précipité rouge que l'on observait dans certaines cellules de la 1^{re} série de coupes, n'existe plus dans les coupes de la seconde série ; si la plante renferme uniquement des matières protéiques, le précipité persiste ; enfin si la plante renferme à la fois alcaloïdes et matières protéiques, il y a un précipité dans les deux séries, mais moins abondant dans la seconde. Dans ce dernier cas, exemple dans les graines, la localisation des alcaloïdes sera plus difficile à effectuer.

Technique opératoire : Coupes de racines, tiges, feuilles,

fleurs: *a*) on fait des coupes transversales suffisamment épaisses (au moins une assise de cellules entières) et des coupes longitudinales, que l'on dépose et laisse dans le réactif pendant un temps variable suivant l'organe envisagé. On retire et on monte dans une goutte de glycérine.

b) D'autres coupes séjournent dans l'alcool tartrique pendant 24 heures en ayant soin d'agiter de temps à autre pour renouveler les surfaces et favoriser la dissolution de l'alcaloïde. On retire, on lave et on fait agir le réactif de BOUCHARDAT pendant le même temps que plus haut.

c) On compare au microscope les deux coupes.

Le travail de JACQUEMIN nous a servi de guide et nous avons procédé comme lui par examen successif des différentes parties de la plante. Nous avons pu contrôler sur la plupart des organes du *Lupinus mutabilis* la localisation indiquée par JACQUEMIN; en particulier dans le tégument de la graine nous n'avons constaté aucune précipitation: l'examen chimique (voir page) reste d'accord avec cette observation; par contre, il nous a été absolument impossible de faire une localisation nette des alcaloïdes dans l'amande (cotylédons) à cause de l'abondance des matières protéiques. Nous le regrettons car nous aurions pu, comme VAN DICK l'a écrit en 1900, suivre les variations dans les cotylédons au cours de la germination, ce qui nous a été très difficile par cette méthode.

Nous avons constaté un nombre moins grand de cellules renfermant des alcaloïdes dans les tiges de plantes âgées, par rapport à celles de tiges jeunes, mais nous n'avons pu trouver de différenciation bien nette dans les feuilles.

Dans l'étude de l'action des engrais nous avons bien observé une plus grande intensité de coloration dans les tiges avec certains engrais par comparaison avec le témoin, sans pouvoir affirmer qu'elle était due à une plus grande proportion d'alcaloïdes.

2. — Détermination de la teneur en alcaloïdes. — *a*) Nous avons cherché la meilleure méthode à utiliser pour suivre les variations des alcaloïdes dans la plante, cultivée dans diverses condi-

tions. Nous avons apporté le plus grand soin à l'établissement de cette méthode, ce qui nous a demandé un temps assez long (près d'une année). Car nous pensons qu'il est absolument nécessaire d'avoir bien en main une manière d'opérer suffisamment précise avant d'entreprendre l'étude des variations des teneurs en alcaloïdes chez les végétaux. Il est toujours facile d'obtenir des chiffres, il est indispensable de pouvoir assurer qu'ils ont été obtenus par des procédés qui apportent toute la précision désirable en ces sortes d'analyses.

1) *Principe* : la méthode que nous avons adoptée définitivement (1924) et que nous avons utilisée sans modification pendant toute la durée de nos expériences est basée sur le principe suivant : 1. extraire les alcaloïdes avec l'éther sulfurique officinal après déplacement par un alcali ; 2. les reprendre par SO^4H^2 dilué ; la solution aqueuse de sels d'alcaloïdes est traitée par l'acide silico-tungstique (1) ; 3. le précipité insoluble de silico-tungstate d'alcaloïde est lavé, séché, incinéré ; 4. du poids du mélange de silice et d'anhydride tungstique trouvé, on déduit le poids d'alcaloïdes correspondant en multipliant par un coefficient vérifié expérimentalement.

2) *Technique opératoire*. — 1. *Précautions employées pour l'obtention du matériel d'analyses* :

a) *Opérations préliminaires avant la dessiccation* : Les organes furent toujours recueillis sur les plantes aussitôt la récolte de celles-ci. Les feuilles furent toujours coupées au ras de la tige, c'est-à-dire à la base du pétiole, à l'aide de ciseaux ; car, ainsi que Ripert l'avait déjà fait observer en 1922, et ainsi que nous avons pu le constater par des expériences précises, les feuilles qui sèchent sur tige mettent plus longtemps à sécher, leur vie est en quelque sorte prolongée et, à poids égal de matière sèche, elles sont plus riches en alcaloïdes que celles que l'on a détachées avant la dessiccation.

1. Suivant la méthode générale indiquée par G. BERTRAND : sur l'emploi de l'acide silicotungstique comme réactif des alcaloïdes. *Bull. Soc. chim.* (3) 21, p. 434, 1899.

Il y a lieu de tenir compte également des feuilles jeunes, vert foncé, qui sont en pleine période d'activité biologique, et des feuilles âgées telles que celles de la base de la tige, dont la coloration tire sur le jaunâtre. Les premières sont beaucoup plus riches en alcaloïdes que les autres ; des expériences (que nous exposerons dans la suite) ont permis de nous en rendre compte d'une façon exacte. C'est pourquoi, dans de nombreuses expériences, nous indiquerons dans les poids de récolte : les feuilles totales et les feuilles jeunes ; le dosage des alcaloïdes portera sur les lots de feuilles jeunes.

Les *tiges* ne furent jamais séchées entières, car leur dessiccation aurait été beaucoup trop longue (en particulier avec les grosses tiges de 4 cc. de diamètre que nous avons obtenues sous l'action de certains engrais) et il se serait produit des fermentations amenant des pertes en substances azotées et en alcaloïdes. Pour éviter ces inconvénients, nous les avons divisées en quatre longitudinalement, puis, coupées ensuite en fragments de 2 cm. de long : ceux-ci présentaient alors une surface de dessiccation beaucoup plus grande et séchaient rapidement. Les *racines* furent coupées et sectionnées de même ; le couteau n'était plus suffisant le plus souvent pour obtenir ce résultat : il fallut employer le coupe-racine.

Les *fruits* furent ouverts, les graines retirées des gousses et celles-ci divisées en fragments longitudinaux, puis transversaux.

Il est utile de rappeler que la récolte fut toujours effectuée par temps sec, et que les organes qui furent pesés à l'état frais, n'avaient aucune trace d'humidité à leur surface.

b) *La dessiccation* : le principe qui nous a guidé fut celui d'opérer la dessiccation le plus rapidement possible et à une température peu élevée, voisine de 33° (1). Pour cela nous avons utilisé la grande étuve de SCHIRBAUX, bien aérée et réglée à + 35°.

1. Nous verrons dans la suite que la température de 35° n'est pas la plus favorable à la dessiccation pour éviter les pertes en alcaloïdes, ainsi que nous le démontrerons expérimentalement en 1929.

A l'arrivée au laboratoire, les plantes fraîches, préparées ainsi qu'il est indiqué plus haut, par organes et par lots, étaient étalées sur papier filtre reposant sur les trois rayons de l'étuve.

c) *Pulvérisation* : après un séjour variable à 35° suivant les organes, ceux-ci étaient ou pulvérisés dans un mortier jusqu'à poudre fine (feuilles, fleurs) ou passés au moulin à café (graines, gousses, tiges, racines). Les graines étaient pulvérisées jusqu'à obtention de 50 % de poudre traversant le tamis n° 40 : la poudre tamisée et le résidu étaient mélangés intimement de façon à avoir une poudre bien homogène.

Les lots d'organes ainsi pulvérisés étaient remis à l'étuve à 35° pendant 48 heures ; les prises d'essai étaient faites pour les dosages soit des alcaloïdes, soit de l'azote total, et une autre prise d'essai de 10 ou de 5 gr. était effectuée pour le dosage de l'humidité restante, par séjour à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant.

2. *Dosage des alcaloïdes* : 1) Agiter la poudre d'organes pendant 12 heures (10 fois pendant quelques minutes) dans un flacon bouchant à l'éméri, avec 100 cm³ d'éther sulfurique officinal et 15 cm³ de solution de lessive de soude à 10 %. Repos 12 heures ;

2) Décanté la solution éthérée dans un verre et prélever V cm³ d'éther (1) dans une ampoule à décantation : ajouter X gouttes de solution alcoolique d'hélianthine à 1 %, puis 10, 15 ou 20 cm³ SO⁴H² N/10 jusqu'à virage au rose obtenu après agitation soignée. Laisser reposer ; soutirer la partie aqueuse dans une fiole d'Erlenmeyer ; reprendre l'éther à deux reprises par 10 cm³ SO⁴H² N/10, agiter et décanté chaque fois dans la liqueur acide après repos. S'assurer que le dernier liquide de lavage, privé d'éther, ne donne plus aucun louche avec l'acide silicotungstique.

3) Chauffer au bain-marie le liquide acide pour chasser

1. On tiendra compte de ce volume dans le calcul.

l'éther dissous et filtrer. Prendre le volume de la solution et ajouter par gouttes HCl pur q. s. pour avoir une solution à 1 % d'HCl. La liqueur refroidie est précipitée par 10 cm³ d'acide silicotungstique en solution aqueuse à 10 %. Repos 12 h.

4) Décantier le précipité amorphe de silicotungstate d'alcaloïdes sur un filtre sans plis. S'assurer que la liqueur (qui doit passer absolument limpide après une ou deux cohobations), ne précipite plus par l'acide silicotungstique. Laver le précipité sur le filtre à l'aide d'une pissette contenant HCl à 1 % jusqu'à ce que le liquide de lavage ne précipite plus une solution aqueuse de sulfate de spartéine à 1 % acidulée par 1 % d'acide sulfurique (1). Egoutter le filtre.

5) Calciner filtre et précipité dans un creuset au four à moufle, jusqu'à poids constant. Peser. Multiplier par le coefficient ou équivalent correspondant à la spartéine : $C = 0,1645$, pour avoir le poids d'alcaloïdes.

R. — Dans cette technique opératoire, nous avons tenu compte de l'insolubilité relative du silicotungstate de spartéine en milieu aqueux, fait qui avait été signalé par G. BERTRAND pour un certain nombre de silicotungstates d'alcaloïdes, et nous nous sommes placés dans les conditions maxima d'insolubilité, c'est-à-dire en milieu acide minéral à 1 % HCl, ainsi que JAVILLIER l'avait signalé en 1910. D'autre part, nous avons constaté qu'un excès d'acide silicotungstique précipitant ne diminuait pas la sensibilité de la réaction.

b) *Détermination du coefficient expérimental* : c'est-à-dire du chiffre à l'aide duquel on devra multiplier le poids de $\text{SiO}_2 + \text{WO}_2$ trouvé pour obtenir le poids d'alcaloïdes totaux exprimés en spartéiné. Ici, une difficulté : car, dans les lupins nous avons un mélange en proportions variables des trois alcaloïdes suivants : lupinidine ou spartéine de poids moléculaire 234, lupanine de poids moléculaire 232, et enfin, mais en faible quantité, lupinine de poids moléculaire 169. Nous avons résolu

1. On observe presque toujours un louche persistant.

d'exprimer les alcaloïdes totaux en spartéine qui, d'après les auteurs allemands, constituerait la plus grande partie des alcaloïdes des *Lupinus luteus* et *mutabilis*. Nous avons vérifié par l'expérience le coefficient par rapport à la spartéine :

1. *Coefficient théorique calculé* : d'après JAVILLIER, le silicotungstate de spartéine renferme deux molécules de base pour une molécule d'acide, et sa formule est la suivante :

$\text{SiO}^2 \ 12 \ \text{WO}^3, \text{NH}^2\text{O}, 2 (\text{C}^{15}\text{H}^{26}\text{N}^2)$: ce qui donne :

2 spartéine = $\text{C} \times (\text{SiO}^2 + \text{WO}^3)$ (1), c'est-à-dire $234 \times 2 = \text{C} \times 2844$, d'où $\text{C} = \frac{234 \times 2}{2844} = 0,1645$.

Il existe d'après le même auteur, deux hydrates : l'un à 7 H^2O , obtenu par dessiccation à 30°; l'autre à 1 H^2O obtenu à 120°.

2. *Coefficient trouvé* : pour l'obtenir nous avons précipité des poids connus et différents de spartéine (employée sous forme de sulfate pur en solution aqueuse) par l'acide silicotungstique : les précipités recueillis sur un filtre, lavés, séchés, étaient incinérés et ont donné des poids respectifs de mélange $\text{SiO}^2 + \text{WO}^3$ correspondant aux différents poids de sel. En utilisant la formule (1) il était facile d'obtenir le coefficient cherché C. Les prises d'essai de sulfate de spartéine étaient voisines de 0 gr. 30, 0 gr. 20, 0 gr. 10 : a) d'une part, nous avons calculé le poids de spartéine correspondant aux prises d'essai, d'après la formule du sulfate de spartéine pur : $\text{C}^{15}\text{H}^{26}\text{N}^2, \text{SO}^4\text{H}^2 + 5 \text{H}^2\text{O}$: P. M = 422.

Puis nous avons calculé les quantités de $\text{SiO}^2 + \text{WO}^3$ qui, d'après la formule du silicotungstate de JAVILLIER, doivent correspondre, après incinération, aux quantités de spartéine ci-dessus calculées.

b) Enfin, nous avons déterminé par l'incinération les quantités de $\text{SiO}^2 + \text{WO}^3$ correspondant aux prises d'essai, ces poids nous ont permis de calculer (en utilisant les chiffres de spartéine que le calcul nous a fournis) le coefficient expérimental cherché.

Nous donnons dans le tableau ci-dessous les chiffres respectifs obtenus par le calcul et par l'expérience.

Or, en prenant la moyenne des 5 expériences nous trouvons le chiffre 0,1646 très voisin du chiffre théorique calculé : 0,1645 ; ce qui confirme la formule du silicotungstate de spartéine donnée précédemment par JAVILLIER et nous permet d'adopter ce dernier chiffre dans nos calculs.

DÉTERMINATION DU COEFFICIENT A EMPLOYER

Prise d'essai	Calculé		Trouvé	Coefficient expérimental trouvé
Sulfate de spartéine	Spartéine	Si O ² + W O ³	Si O ² + W O ³	
gr.				
1. 0,3030	0,1678	1,0195	1,024	0,1638
2. 0,3000	0,1662	1,009	1,008	1,1648
3. 0,2010	0,1113	0,6762	0,678	0,1641
4. 0,1000	0,0554	0,3366	0,335	0,1653
5. 0,1005	0,0556	0,3378	0,336	0,1654

c) *Vérification de notre méthode de dosage des alcaloïdes à l'aide du sulfate de spartéine* : avant d'employer notre méthode dont nous avons donné le principe et la technique opératoire ci-dessus, nous avons voulu la vérifier de la façon suivante :

1. Nous avons mélangé intimement des poids respectifs de 0 gr 20 de sulfate de spartéine à de la poudre fine de graine de lupin ; 2. puis, nous avons dosé comparativement les alcaloïdes par notre méthode, dans la poudre ainsi alcaloïdisée et dans la même poudre témoin, mais non additionnée de spartéine ; 3. Nous avons obtenu ainsi par différence les quantités de SiO² + WO³ correspondant à la spartéine ajoutée. Par suite, nous en avons déduit par le calcul, en employant les formules précédemment données, les quantités de spartéine, puis de sulfate de spartéine correspondantes.

Prise d'essai 0 gr. 20 sulfate de spartéine.

calcul :

Spartéine correspondante.....	0 gr. 1109
$\text{SiO}^2 + \text{WO}^3$	0 gr. 6738

trouvé :

$\text{SiO}^2 + \text{WO}^3$	0 gr. 660
Spartéine correspondante.....	0 gr. 1085
Sulfate de spartéine correspondant.....	0 gr. 1974

Conclusion. — Nous avons donc retrouvé très sensiblement la quantité de sulfate de spartéine ajoutée à la poudre de lupin, ce qui vérifie expérimentalement notre méthode d'extraction et de dosage des alcaloïdes.

3. — Détermination de l'azote total et de l'azote protéique :
1^o Pour déterminer l'azote total dans la poudre de lupin, nous avons employé dans nos premiers essais la méthode de KJELDAHL, avec la modification apportée en 1924 par FLEURY et LEVALTIER ; puis, la même méthode avec la modification que nous lui avons apportée nous-mêmes à la suite d'essais de dosage dans quelques alcaloïdes⁵. Nous pouvons résumer le mode opératoire ainsi, en renvoyant pour les détails à notre étude de 1927 :

Destruction des matières organiques : dans un ballon de KJELDAHL en verre pyrex à l'aide d'un mélange type : 5 gr. $\text{SO}^4\text{K}^2 + 10 \text{ c}^3 = \text{SO}^4 \text{H}^2$ pur ($D = 1,83$), pour des prises d'essai de 0 gr. 10 ou de 0 gr. 20 de poudre aussi fine que possible.

Nous avons prolongé l'action de la chaleur pendant une heure au moins, deux heures au plus après décoloration.

Entraînement de l'ammoniaque libéré par la soude : par un courant de vapeur d'eau à l'aide du dispositif indiqué et qui nous sert encore actuellement pour tous nos azotes totaux. Le titrage a toujours été effectué en présence d'alizarine-sulfonate

de sonde, sensibilisée selon les indications données en 1920 par W. Mestrezat ;

2° Pour déterminer *l'azote protéique* nous avons utilisé la propriété que possèdent les alcaloïdes d'être solubles dans l'alcool tartrique à 2 % à l'exclusion des matières protéiques.

CHAPITRE X

VARIATIONS QUANTITATIVES DES ALCALOÏDES :

I. — Dans différents organes :

a) Variations de la teneur en alcaloïdes dans les feuilles jeunes et dans les feuilles âgées provenant d'un même pied. —

1. *Mode opératoire* : nos expériences faites en 1927-1928, ont porté sur les feuilles provenant de deux pieds de lupin : un superbe pied poussé dans le jardin de Fontainebleau sous l'action de l'engrais complet et pesant frais 2.110 gr. ; un pied témoin poussé sans engrais, au même endroit, et ne pesant que 520 gr.

Nous avons récolté sur chacun des deux pieds venant d'être déterrés toutes les feuilles, en les coupant au ras de la tige avec des ciseaux pour avoir un pétiole maximum. Nous les avons séparées en deux lots pour chaque pied : feuilles jeunes, d'un vert clair ; feuilles âgées d'un vert sombre et que nous avons cueillies vers la base de la tige.

Les deux pieds nous ont donné les poids suivants de feuilles à l'état frais :

	Feuilles	
	Jeunes	Agées
Engrais complet.....	448 gr.	247 gr.
Témoin.....	101 gr.	19 gr.

Les feuilles avec l'engrais complet portaient des pétioles de 8 cm. de longueur environ et de 2 cm. de large au centre ; ceux du témoin n'avaient que 5 cm. 5 de long et étaient plus étroits : 1 cm. 20.

Puis, nous avons fait des lots de 100 gr. de feuilles jeunes et de feuilles âgées pour chacun des deux pieds et nous les avons mis à sécher à l'étuve à 35°, ensuite nous les avons pulvérisés et remis à sécher jusqu'à poids constant ;

2. *Résultats* : les dosages d'alcaloïdes dans ces lots nous ont donné pour 100 gr. de feuilles fraîches et par pied les quantités suivantes :

	Feuilles			
	Jeunes		Agées	
	% frais	Par pied	% frais	Par pied
Engrais complet	31 mg. 4	141 mg.	7 mg. 2	19 mg.
Témoin	23 mg. 7	24 mg.	3 mg. 1	0 mg. 6

3. *Conclusions* : 1) La proportion des alcaloïdes est donc beaucoup plus élevée dans les feuilles jeunes ; le rapport entre la teneur en alcaloïdes % de feuilles fraîches dans les organes jeunes et dans les organes âgés est de 4,36, pour l'engrais complet et de 7,64 pour le témoin, rapport très variable ainsi qu'on peut le constater ;

2) Les doses d'alcaloïdes % de feuilles fraîches sont plus élevées dans les pieds à engrais complet.

Conséquence : Lorsqu'on envisage la récolte des feuilles dans la culture des plantes médicinales à alcaloïdes, il semble qu'il y ait intérêt à ne cueillir que les feuilles jeunes et à rejeter les feuilles âgées du bas de la tige, dont la teneur en alcaloïdes est beaucoup plus faible et pour ainsi dire insignifiante.

En effet, en rapportant à 100 gr. de feuilles sèches et pour l'engrais complet, nous avons une teneur de 0 gr. 209 avec les feuilles jeunes et seulement de 0 gr. 048 avec les feuilles âgées.

b) **Variations de la teneur en alcaloïdes dans les feuilles jeunes** suivant que celles-ci ont été détachées de la tige avant le séchage, ou qu'elles ont séché sur la tige. — 1. *But*: Nous avons en effet remarqué que les feuilles qui restent adhérentes à la tige (quand le pied est déterré) mettent beaucoup plus longtemps avant de sécher que d'autres feuilles détachées immédiatement de la tige et séchées séparément. Leur vie est ainsi prolongée, les échanges vitaux continuent de se faire et il peut en résulter une influence sur la teneur en alcaloïdes.

2. *Mode opératoire*: Nos expériences faites en 1927-1928 comme plus haut, ont porté sur des feuilles jeunes provenant de deux pieds de lupin cultivés dans le jardin de Fontainebleau: un très beau pied poussé sous l'action de l'engrais complet et pesant frais 2.080 gr. , le second moins développé, mais très vert et beau aussi, poussé dans le carré correspondant au carbonate de magnésium et pesant 998 gr.

Nous avons récolté sur chacun des 2 pieds de lupin, venant d'être déterrés, 100 gr. de feuilles jeunes, comme précédemment. Et nous avons mis ces deux lots de feuilles à sécher à l'air libre (après les avoir étalées sur des claies) dans une des salles du magnifique laboratoire de Biologie végétale créé par G. BONNIER à Fontainebleau: c'était en septembre, la température était favorable à la dessiccation. D'autre part les deux pieds, avec leurs feuilles restantes, ont été placés debout dans la même salle et abandonnés à eux-mêmes.

Après deux semaines, les premiers lots de feuilles détachées étaient suffisamment secs pour pouvoir être pulvérisés.

Nous avons attendu trois semaines, c'est-à-dire le début d'octobre pour détacher le reste des feuilles jeunes sur les deux pieds: nous avons recueilli des poids de feuilles séchées égaux aux poids de feuilles sèches correspondant aux lots de 100 gr. de feuilles fraîches.

Les quatre lots de feuilles (séchées à l'air libre) ont été transportés à Rouen au laboratoire, placés à l'étuve à 35° pendant

un égal temps, pulvérisés, séchés de nouveau jusqu'à poids constant.

3. *Résultats*: Les dosages des alcaloïdes dans ces lots ont donné par 100 gr. de feuilles fraîches les chiffres suivants :

	Feuilles	
	Détachées	Restées sur tige
Engrais complet	34 mg.	37 mg.
Carbonate de magnésium.....	27 mg.	31 mg.

4. *Conclusions* : on voit donc qu'il continue à se former des alcaloïdes dans les feuilles qui persistent à vivre, pendant encore un certain temps de la vie de la plante.

La différence n'est pas très grande puisqu'elle n'atteint que 3-4 mgr. pour 100 gr. de feuilles fraîches jeunes, mais comme nous savons (1) que le rendement par pied en feuilles fraîches jeunes pour l'engrais complet dépasse 400 gr. et pour le carbonate de magnésium dépasse 300 gr. nous avons donc par pied des différences de $3 \text{ ou } 4 \times 4 = 12 - 16$ mgr. dans le 1^{er} cas, $3.4 \times 3 = 9 - 12$ mgr. dans le second.

Si l'on envisage maintenant la culture de plantes médicinales à alcaloïdes et la récolte des feuilles pour les usages thérapeutiques à l'état sec, on obtient les différences suivantes par 100 gr. de feuilles sèches avec les 2 lots : 20 mgr. à 26 mgr. %.

c) *Variations de teneur en alcaloïdes pendant quatre stades de maturation de la graine.* — Nos expériences ont été faites en 1927-1928 sur des graines provenant de lupins cultivés à Fontainebleau :

1. Par le tableau II : Les récoltes, dans l'étude de l'action des engrais.

1) *Mode opératoire* : nous avons prélevé des gousses à différents états de maturité :

1. Gousses vertes, plates, à semences petites.
2. Gousses encore vertes, mais à semences plus développées.
3. Gousses vert jaunâtre, à semences de grosseur normale mais verdâtres.
4. Gousses jaunâtres, ligneuses, à semences mûres et blanches.

Les fruits ainsi recueillis sur un certain nombre de pieds du même carré de plantes ont été ouverts et les graines retirées ont été immédiatement pesées pour avoir des lots de 100 grammes fraîches ; les gousses vides correspondantes ont été pesées également.

Et les quatre lots de graines et de gousses, transportés au laboratoire de Rouen, ont été mis à sécher à l'étuve à 33°, après avoir eu soin d'étaler les organes sur des claies et de les retourner souvent pendant la dessiccation. Après 10 jours, nous avons pu passer les graines au moulin à café et la poudre fine ainsi obtenue a été de nouveau séchée à 33° jusqu'à cessation de perte de poids. Les gousses ont mis de 15 à 20 jours avant dessiccation suffisante.

2) Les *Résultats* sont consignés dans les tableaux ci-dessous : la proportion d'eau, très élevée chez la jeune graine, va en diminuant progressivement à mesure qu'elle mûrit. Il en est de même pour la gousse qui la renferme ; mais la graine se deshydrate beaucoup plus rapidement que la gousse et celle-ci est beaucoup plus longue à sécher.

3) *Interprétation des Résultats* : nous constatons que la proportion d'alcaloïdes pour 100 gr. de graines fraîches s'élève progressivement à mesure que celles-ci s'approchent de la maturité : c'est à ce moment qu'elle atteint son maximum. Par contre, si l'on rapporte la teneur à l'unité, c'est-à-dire à la graine : c'est avant sa maturité complète, lorsque la graine a son volume définitif qu'elle est le plus riche en alcaloïdes.

VARIATIONS DE TENEUR EN ALCALOÏDES
PENDANT 4 STADES DE MATURATION DE LA GRAINE
(Rapportées aux graines fraîches.)

Pour 100 grammes		Par graine
Alcaloïdes	Nombre de graines	Alcaloïdes
I 60 mg.	156	0 mg. 384
II 66 mg.	40	1 mg. 650
III 70 mg.	21	3 mg. 300
IV 97 mg.	51	1 mg. 902

Teneur en alcaloïdes dans 100 grammes de gousses fraîches : I : 72 mg. ; II : 31 mg. ; III : 20 mg. ; IV : 8 mg.

d) VARIATIONS DE TENEUR EN ALCALOÏDES DANS LES GRAINES MURES
DE RÉCOLTES SUCCESSIVES EFFECTUÉES SUR UN MÊME SOL

Années de récoltes	Nombre de graines pour 100 grammes	Poids de 100 graines	Alcaloïdes		
			Pour 100 grammes	Par graine	Pour 100 graines
		gr.	gr.	mg.	gr.
1924	526	18,98	1,075	2,04	0,204
1925	527	19,01	0,954	1,81	0,181
1926	560	17,85	1,20	2,14	0,214
1927	530	19,25	1,15	2,22	0,222
1928	500	20,00	1,26	2,52	0,252

Nous constatons que, d'une année à l'autre, non seulement le poids des graines varie, mais encore leur teneur en alcaloïdes par graine, et ceci vraisemblablement sous l'influence des différents facteurs climatiques.

1. *Recherche des alcaloïdes dans les téguments de la graine*: 1) nous avons essayé à l'aide de la localisation microchimique, par la méthode d'Errera, la recherche qualitative des alcaloïdes dans la graine de *Lupinus mutabilis* : ceux-ci sont très abondants dans les cotylédons, mais nous n'avons observé aucune localisation dans les cellules des téguments.

2) Nous avons complété notre recherche par un essai d'extraction et de dosage des alcaloïdes dans l'enveloppe de la graine : pour cela, nous avons enlevé les téguments de 450 graines pesant 85 gr. 50 et, sur les 8 gr. de produit obtenu, nous avons retiré 0 gr. 000975 d'alcaloïdes, chiffre très faible (1), qui nous donne les quantités suivantes : 100 gr de tégument renfermeraient 0 gr. 0243 d'alcaloïdes, 100 gr. de graines fournissent 9 gr. 35 de tégument qui contiennent 0 gr. 0022 d'alcaloïdes. Enfin 100 graines donneraient 1 gr. 77 de téguments renfermant 0 gr. 0043 d'alcaloïdes, doses très faibles, ainsi qu'on peut le constater.

On peut donc conclure que le tégument de la graine de *Lupinus mutabilis* ne renferme pas d'alcaloïdes ou, du moins, n'en contient que des doses très minimes.

II. — Variations dans les différents organes d'une même plante.

Pendant l'année 1925 nos expériences ont porté sur des lupins cultivés en deux endroits différents : les uns dans un grand jardin de Sotteville-les-Rouen dont le sol sablonneux et largement fumé au fumier de ferme convenait très bien à la culture du lupin ; les autres dans le jardin d'essai du laboratoire de Biologie végétale de Fontainebleau et dont l'analyse de la

1. Peut-être même cette faible proportion est-elle due aux parties de l'amande qui ont pu se détacher avec le tégument quand nous avons enlevé celui-ci.

terre a été faite plus tard (en 1928) comme nous le verrons plus loin dans l'essai avec les engrais.

Notre but était de suivre les variations quantitatives des alcaloïdes dans les différents organes de la plante au cours de sa végétation normale et celles de l'azote protéique dans les feuilles.

Principe : des récoltes de lupins, cultivés sur le même terrain récoltes faites à différents âges de la plante, nous ont permis : 1° de déterminer les rendements à l'état frais et à l'état sec par pied et par organe ; 2° de doser les alcaloïdes dans des parties aliquotes des lots et de comparer les résultats pour cent de poids sec d'organe et par pied ; 3° de doser l'azote protéique dans les feuilles et de comparer avec la teneur en alcaloïdes.

Mode opératoire : nous avons cultivé en partant de la graine et, comme l'espèce envisagée (*L. mutabilis*) est une espèce annuelle, nous avons fait des récoltes aux différents âges suivants : 1. Après un mois et demi de culture, c'est-à-dire quand la plante est prête à fleurir ; 2. en pleine floraison ; 3. sur des plantes à la fin de la période de végétation.

R. — Les lupins de Fontainebleau n'ont donné lieu qu'à deux récoltes ; l'une au moment de la floraison ; l'autre au moment de la fructification. Mais une gelée précoce, survenue au début d'octobre avec un abaissement de température de — 7°, nous a empêché d'effectuer la deuxième partie des expériences.

Afin d'avoir du matériel en quantité suffisante pour nous permettre d'effectuer nos dosages, nous avons choisi 10 pieds parmi les moyens pour les plantes de la première récolte, 5 pieds pour les plantes en fleurs et en fruits et nous avons établi les moyennes par pied.

Les *résultats* sont consignés dans les trois groupes de tableaux ci-dessous :

Groupe 1. Récolte : A. poids frais ; B. poids sec.

Groupe 2. Alcaloïdes : % de poids sec, par pied.

Groupe 3. Azote protéique : % de feuilles sèches et par pied.

Ce sont ceux relatifs aux cultures faites à Sotteville, et qui nous paraissent les plus intéressants à considérer ici :

Interprétation des résultats : A. — *Teneur en alcaloïdes* : il résulte de la lecture de ces tableaux : 1. que les alcaloïdes augmentent progressivement dans les feuilles par pied jusqu'à l'époque de la floraison, pour diminuer ensuite. A cette époque, on voit les alcaloïdes s'accumuler en assez grande quantité dans les fleurs pour passer ensuite dans les fruits et surtout dans les graines. Ce sont les graines qui, dans le végétal, ont la plus haute teneur en alcaloïdes pour 100 gr. sec.

**VARIATIONS DE POIDS DE RÉCOLTE ET DE TENEUR EN ALCALOÏDES
AU COURS DE LA VÉGÉTATION NORMALE DE LA PLANTE**

I. — RÉCOLTE

A. — POIDS FRAIS.

Age	Plante entière	Feuilles	Tiges	Racines	Fleurs	Gousses	Graines
45 jours	49	19	28	2			
Pleine floraison...	465	135	200	32	98		
Fructification	510	86	220	35	38	91	40

B. — POIDS SEC.

45 jours	10	6	3	1			
Pleine floraison...	84,25	20,25	40	13	11		
Fructification	91,4	12,20	44	13	4,10	12	6,10

II. — TENEUR EN ALCALOÏDES

Age	% sec					Par pied				
	Feuilles	Tiges	Racines	Fleurs	Gousses	Feuilles	Tiges	Racines	Fleurs	Gousses
45 jours	gr. 0,733	0,060	0,010			gr. 0,044	0,0048	0,0001		
Floraison	0,280	0,012	0,0015	0,785		0,056	0,0048	0,0002	0,0863	
Fructification...	0,071	0,011	0,0015	0,450	0,341	0,009	0,0048	0,0002	0,018	0,040
										0,027

100 grammes de graines au départ { renferment : 1 gr. 075 d'alcaloïdes
fournissent : 526 graines

soit 2 mg. 04 par graine

100 grammes de graines récoltées { renferment : 0 gr. 954 d'alcaloïdes
fournissent : 527 graines

soit 1 mg. 81 par graine.

2. Dans les tiges, nous voyons la proportion croître jusqu'à la floraison, elle diminue lentement ensuite ;

3. Dans les racines, elle se tient sensiblement stationnaire et faible.

Si nous calculons la quantité totale d'alcaloïdes contenue dans un pied moyen, nous y trouvons les doses suivantes : après 45 jours 0 gr. 0459 ; au moment de la floraison 0 gr. 1473 ; en pleine fructification 0 gr. 099.

Donc, la proportion d'alcaloïdes croît progressivement dans un pied de lupin jusqu'au moment de la floraison pour diminuer ensuite.

Les tableaux de Fontainebleau, bien qu'incomplets, nous offrent des résultats de même ordre, puisque nous y trouvons 0 gr. 74 d'alcaloïdes % dans les feuilles des plantes en pleine floraison et 0 gr. 08 ensuite dans celles des pieds portant des fruits.

Conclusion. — Ce sont là des résultats déjà connus, mais qu'il était intéressant de vérifier, surtout en opérant comme nous l'avons fait, comparativement pour cent de poids sec et par plante : il y a augmentation de teneur en alcaloïdes dans un pied de lupin jusqu'à la floraison suivie ensuite de diminution, avec l'âge, avec une concentration dans les organes reproducteurs ; autrement dit, à partir de cette période de la vie de la plante, la floraison, il y a migration des alcaloïdes de la partie végétative vers les organes de reproduction et ces alcaloïdes sont en plus faible proportion.

III. — TENEUR EN AZOTE PROTÉIQUE DANS LES FEUILLES SÈCHES

	% sec	Par pied	Pour 100 pieds
45 jours	3,15	0,787	78,70
Floraison	2,73	0,682	68,20
Fructification	0,70	0,175	17,50

Nous trouvons une diminution progressive de l'azote protéique à mesure que la plante croît alors que Ripert avait trouvé une augmentation parallèle à celle de l'alcaloïde jusqu'à la floraison suivie d'une diminution pour les deux.

En résumé, jusqu'au moment de la floraison de la plante nous trouvons qu'à une augmentation de la teneur en alcaloïdes correspond une diminution en azote protéique. Ce sont là des résultats de même sens que ceux obtenus par WEWERS sur les plantes à caféine.

III. — Les plantes ont été desséchées dans des conditions variées.

1) *A l'air sec et à l'air humide* : TUNMANN et JENZER ³⁰, 1910, ont constaté que des feuilles de Jaborandi (alcaloïde : pilocarpine) abandonnées dans un endroit sec, perdaient très peu d'alcaloïdes, tandis que dans un endroit humide elles en perdaient 50 %.

2) *Dessiccation, dans des conditions variées, de plantes stabilisées et de plantes non stabilisées* :

Nos expériences ³¹ ont porté sur des pieds de lupin cultivés à Fontainebleau pendant l'année 1928 et récoltés en pleine période de floraison.

I. — *Principe* : 1. Séparer sur la plante fraîche, venant d'être déterrée, les différents organes : racines, tiges, feuilles jeunes, fleurs, fruits, et en prélever des lots de 100 gr.

2. Les dessécher dans les conditions variées suivantes : les uns, stabilisés d'abord, puis séchés à l'étuve à 70° ; les autres, séchés directement suivant les deux modalités qui suivent :

a) certains, rapidement à l'étuve, aux diverses températures : 35°, 70°, 100° ;

b) d'autres, lentement à l'air libre, soit à l'air sec, soit à l'air humide.

3. Pulvériser chacun des lots et titrer les alcaloïdes dans chacun d'eux. Comparer les résultats.

II. — *Mode opératoire* : a) *procédé de stabilisation employé* : 1° la méthode suivie fut celle de PERROT-GORIS aux vapeurs d'alcool, à l'aide d'un seul autoclave :

2° *La technique* : les différents organes avaient été prélevés et pesés à Fontainebleau et distribués par lots ; 1 h. 30 après nous arrivions à la maison DAUSSE de Paris pour faire notre stabilisation (1). Les plantes bien emballées n'avaient pas eu le temps de perdre de leur fraîcheur et, comme les lots à stabiliser étaient très réduits, il fut jugé inutile d'employer le système des deux autoclaves accouplés. Donc, de l'alcool fut placé dans des capsules au fond de deux autoclaves et, les organes furent introduits dans les appareils, placés dans leurs papiers respectifs dans des paniers. La durée de la stabilisation et la pression furent différentes suivant la nature des organes : c'est ainsi que les feuilles, les fleurs et les gousses furent stabilisées à 110° pendant 1 minute seulement ; les tiges le furent à la même température après 3 minutes ; les racines nécessitèrent 10 minutes d'exposition à 118°. Pour se rendre compte que la stabilisation de l'organe avait été bien obtenue, on fit l'essai avec la teinture récente de résine de gaïac et l'eau oxygénée sur un très faible fragment de chacun des lots. Il fut reconnu négatif avec les cinq lots ; donc ceux-ci étaient privés de ferments.

Les lots, retirés humides de l'autoclave, avaient taché légèrement le papier, mais l'intérieur des lots n'était pas altéré :

b) *La dessiccation* fut commencée quelques heures après à Rouen, en même temps que celle des lots non stabilisés. Plusieurs étuves, bien réglées à l'avance, nous permirent de sécher

1. Nous sommes heureux de remercier ici bien sincèrement M. CARRUEL, qui, avec sa grande compétence de la stabilisation des plantes médicinales, a bien voulu se charger devant nous de l'opération et en a dirigé les différentes phrases d'une façon parfaite.

les lots aux températures convenables entre 95 et 100°; à 65-72° (lots stabilisés et non stabilisés) entre 32 à 37°.

Les lots de plantes avaient été bien étalés sur des claies ; au préalable, ils avaient été divisés suivant leur nature ; exemple : les tiges avaient été sectionnées longitudinalement en quatre fragments, puis transversalement en petits fragments ; les racines furent sectionnées au seccateur ou au ciseau en minces rondelles ; les gousses furent ouvertes, les graines coupées en deux et les fruits sectionnés en fragments. Tout ceci dans le but de hâter la dessiccation.

Il en fut de même pour le séchage à l'air libre. Les organes furent retournés à maintes reprises jusqu'à dessiccation suffisante : celle-ci fut reconnue telle, quand le lot en question pouvait être pulvérisé finement. Il était alors placé dans une grande étuve, contenant des exiccateurs à la chaux, jusqu'au moment du dosage des alcaloïdes.

Au cours de la dessiccation, la coloration des organes varia sensiblement avec la température employée : c'est ainsi que les feuilles stabilisées prirent une coloration d'un beau vert foncé, celles non stabilisées parurent plus brunes, les fleurs gardèrent leur bel aspect jusqu'à la fin, et, sauf à l'étuve à 100° et à 70° elles dégagèrent un parfum suave pendant toute la durée de la dessiccation.

c) *Le titrage des alcaloïdes* fut fait dans chacun des lots par notre méthode à l'acide silicotungstique et les résultats rapportés aux prises d'essai, c'est-à-dire à 100 gr. d'organe frais.

III. Les *résultats* sont consignés dans le tableau de la page 126.

IV. *Interprétation des résultats.* — 1) *Comparaison entre les organes stabilisés et ceux qui ne le sont pas* : dans tous les lots d'organes stabilisés, la teneur en alcaloïdes reste supérieure, (sauf cependant dans les gousses où la quantité, à l'étuve à 100°, se trouve plus grande, avec un écart de 0 gr. 079 d'alcaloïdes par kgr., soit un rendement de 7 gr. 90 en plus par 100 kgr. de plantes).

2) *Comparaison entre les organes stabilisés à 70° et les organes non stabilisés et séchés à la même température ; nous trouvons par kgr. de plante fraîche et pour les cinq organes envisagés, les différences suivantes :*

**VARIATIONS DE TENEUR EN ALCALOÏDES (pour 100 gr. d'organes frais)
CHEZ LE LUPIN APRÈS DESSICCATION DANS DES CONDITIONS VARIÉES**

	Plante stabilisée	Plante non stabilisée				
		à 100°	Etuve		Air libre	
			à 70°	à 35°	Sec (1)	Humide (2)
	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.
Fleurs	0,1483	0,1318	0,1120	0,1026	0,1071	0,0951
Feuilles.....	0,0532	0,0393	0,0500	0,0376	0,0327	0,0194
Gousses	0,1528	0,1607	0,1475	0,1209	0,1398	0,1059
Tiges	0,0061	0,0051	0,0050	0,0034	0,0049	0,0017
Racines	0,0041		0,0029	0,0010	0,0012	

1° *Fleurs* : 0 gr. 363 d'alcaloïdes, soit une augmentation de rendement de 36 gr. 30 pour 100 kgr. de fleurs, sur un rendement (plante stabilisée) de 148 gr. 30 d'alcaloïdes ;

2° *Feuilles* : 0 gr. 032, d'alcaloïdes soit une augmentation de rendement de 3 gr. 20 par 100 kgr. de feuilles, sur un rendement (plante stabilisée) de 53 gr. 20 alcaloïdes ;

3° *Gousses* : 0 gr. 053, d'alcaloïdes, soit une augmentation de rendement de 5 gr. 30 pour 100 kgr. de gousses, sur un rendement (plante stabilisée) de 152 gr. 80 alcaloïdes ;

4° *Tiges* : 0 gr. 011 d'alcaloïdes, soit une augmentation de

1. La température pendant la durée de la dessiccation, s'est maintenue entre 15° et 22°.

2. La température varia de 13° à 20°.

rendement de 1 gr. 10 pour 100 kgr. de tiges, sur un rendement (plante stabilisée) de 6 gr. 10 alcaloïdes.

5° *Racines* : 0 gr. 0012 d'alcaloïdes, soit une augmentation de rendement de 1 gr. 20 pour 100 kgr. de racines sur un rendement (plante stabilisée) de 4 gr. 10 alcaloïdes.

3) *Comparaison entre les organes stabilisés et séchés à 70° et les organes non stabilisés et séchés à l'air libre et sec* ; ici les différences sont plus grandes : ainsi, pour les fleurs on trouve 0 gr. 412 par kgr. soit 41 gr. 20 pour 100 kgr. : pour les feuilles : 0 gr. 205 par kgr. soit 20 gr. 50 pour 100 kgr. ; pour les gousses : 0 gr. 130 par kgr. soit 13 gr. pour 100 kgr. ; pour les tiges : 0 gr. 012 par kgr. soit 1 gr. 20 pour 100 kgr.

4) *Comparaison entre les organes non stabilisés et séchés à l'étuve à différentes températures* : nous reconnaissons que c'est à l'étuve à 70° que la plupart des organes se sont le mieux comportés ; à 100° si les fleurs et les gousses ont subi de moins grandes pertes, par contre les feuilles ont un écart en moins de 0 gr. 107 d'alcaloïdes par kgr., soit 10 gr. 7 par 100 kgr. ; à 35° tous les chiffres sont au-dessous de ceux obtenus à 70°. Il semble donc, d'après ces résultats, que la méthode de dessiccation pour ces plantes à alcaloïdes volatils que sont les lupins consiste (en dehors de la stabilisation préalable et séchage à 70° que nous classons à part ici, puisqu'elle est considérée comme supérieure) à les soumettre à une température relativement élevée, voisine de 70°-80° ; il est probable que, dans ces conditions comme aussi au voisinage de 100° les ferments sont promptement atteints et qu'ils ne peuvent agir pendant un temps suffisamment long sur le contenu cellulaire pour détruire les alcaloïdes ; d'autre part, ceux-ci doivent être suffisamment fixes (sous forme de sels) pour pouvoir subir ces températures sans être volatilisés.

5) *Comparaison entre les organes séchés à l'étuve (à différentes températures) et ceux séchés à l'air libre : air sec et air humide* : dans ces derniers cas, l'action prolongée des ferments, non détruits, se fait largement sentir, surtout à l'air humide, où la

durée de dessiccation est forcément très longue : elle a dépassé un mois.

V. *Conclusions.* — 1) Ainsi que l'avait déjà montré A. COLOMER Y. PUJOL en 1921, avec le genêt, la stabilisation exerce une grande influence sur le lupin, plante renfermant également comme le précédent un alcaloïde liquide, volatil : la spartéine.

Elle est caractérisée par : 1° une différence de coloration entre le végétal stabilisé et celui non stabilisé ; 2° la présence d'une plus grande quantité d'alcaloïdes dans tous les organes (ou presque) de la plante stabilisée.

C'est surtout avec les fleurs que cette différence se fait le plus fortement sentir, et ceci est intéressant, car chez les lupins, comme probablement chez beaucoup d'autres plantes à alcaloïdes, la teneur en principe actif est très élevée dans ces organes.

Nos expériences confirment donc l'opinion de l'auteur espagnol quand il dit que la stabilisation est applicable aux plantes à alcaloïdes volatils aussi bien qu'à celles à alcaloïdes fixes, bien que le lupin renferme les deux sortes d'alcaloïdes, mais en plus forte proportion la spartéine.

En dehors de la stabilisation, qui apparaît ici comme une méthode nettement supérieure au point de vue des rendements en alcaloïdes, nous pouvons dire que la dessiccation à l'étuve à 70° (ou même à 100°) est meilleure que celle à l'étuve à 35° et surtout que la dessiccation à l'air libre même sec.

CHAPITRE XI

VARIATIONS PROVOQUÉES SOUS L'INFLUENCE DE DIFFÉRENTS FACTEURS EXTÉRIEURS

Nutrition.

a) *Variations avec les conditions de culture :*

Action des engrais.

En 1927 ³³, nous avons étudié l'influence de certains engrais et agents chimiques sur le poids des récoltes et sur la richesse alcaloïdique chez le lupin.

1. *Principe* : 1° ajouter a) soit au sol (dont l'analyse physique et l'analyse chimique avaient été faites préalablement), un certain nombre d'engrais ou produits chimiques en proportions déterminées ; b) soit à l'air, un engrais gazeux : le gaz carbonique, de façon à en augmenter la teneur normale. Et cultiver des lupins, par petits lots à partir de la graine ;

2° Au début de la floraison, faire les récoltes (car c'est à ce moment que les plantes sont le plus riches en alcaloïdes, ainsi que l'expérience l'a montré). Prendre les poids de plantes fraîches par pied ; puis par organe pour chaque lot : établir les moyennes par lot et par pied ;

3° Faire sécher à l'étuve à 35° des parties aliquotes de chaque lot, prendre les poids comme plus haut, établir les moyennes ;

4° Doser les alcaloïdes dans les lots d'organes secs de feuilles et de tiges ;

5° Comparer les poids de récoltes pour les feuilles jeunes et pour les tiges, et les teneurs correspondantes en alcaloïdes. Dresser des tableaux donnant ces indications, les coefficients de rendement à la fois en valeur absolue c'est-à-dire par rapport à 100 parties de poids sec d'organe et en valeur relative par

rapport à un pied moyen, c'est-à-dire par rapport à la récolte.

6° Pour lire plus facilement les résultats de ces tableaux, dresser des graphiques condensant la comparaison entre les teneurs en alcaloïdes.

2. *Technique opératoire et résultats.*— Nos expériences ont été faites à Fontainebleau, dans le jardin d'essai du Laboratoire de Biologie Végétale. Les engrais ont été ajoutés au sol dont nous avons fait préalablement l'analyse au double point de vue physique et chimique et dont voici les résultats :

ANALYSE DU SOL DE FONTAINEBLEAU

(Jardin d'essais du laboratoire de Biologie végétale : terrain réservé à la culture des lupins : prélèvements faits sur le sol et le sous-sol en juin 1928.)

1° Analyse physico-chimique.

Eléments %	Sol	Sous-sol
	gr.	gr.
Terre fine	95,130	99,180
Cailloux	4,870	0,820
Sable siliceux	88,720	97,146
Argile	0,470	0,570
Calcaire	1,720	0,209
Débris organiques	3,160	0,805
Humus	0,165	0,050
Eau et indéterminés	0,895	0,400

2° Analyse chimique.

	gr.	gr.
Azote total %	0,098	0,024
P ² O ⁵	0,052	
P ² O ⁵ soluble dans les acides faibles.....	0,018	0,018
K ² O soluble à froid dans les acides faibles.....	0,026	0,004
MgO	0,038	0,021

Nos essais ont porté : 1. sur l'action d'un certain nombre d'engrais et agents chimiques qui ont servi à l'alimentation de la plante ; 2. sur celle d'un engrais gazeux : le gaz carbonique.

I. — *Etude de l'action des engrais et agents chimiques solides.*

a) *Mode opératoire* : nous avons semé en fin avril, quelques jours après avoir ajouté au sol, dans des parcelles de terrain de 4 m² contiguës, les produits chimiques en dissolution ou en suspension dans l'eau et dans des proportions bien déterminées qui ont été les suivantes par m² : 1. Nitrate d'ammonium 40 gr. ; 2. phosphate d'ammonium 57 gr. ; 3. sulfate d'ammonium 57 gr. ; 4. sulfate de fer 5 gr. ; 5. sulfate de manganèse 10 gr. ; 6. carbonate de magnésium (1) 20 gr. ; 7. chlorure de potassium 20 gr. ; 8. sulfate de potassium 23 gr. ; 9. silicate de magnésium colloïdal (1) : dose simple 3 gr. 82 ; 10 le même : 5 doses 19 gr. 10 ; 11. le même 10 doses 38 gr. 20 ; 12. engrais complet (phosphate d'ammonium, sulfate de potassium, carbonate de magnésium, silicate de magnésium colloïdal, sulfate de fer, sulfate de manganèse ; 13. engrais complet sans sels de magnésium.

R. — Le silicate de magnésium colloïdal (1) était fourni par un produit commercial, le *Promoloïd Asahi*, dont la teneur en MgO était de 6 gr. 27 %, en SiO₂ de 1 gr. 95 %. D'après les indications données pour son mode d'emploi, ce produit pouvait être utilisé à la dose simple correspondant à 2 cmc. ou 3 gr. 60 par m², répandue après agitation du récipient, à 5 fois ou même 10 fois cette quantité : ce sont ces doses simples, X 5 et X 10 que nous avons utilisées.

Une parcelle du même terrain servait de témoin.

La germination s'est bien effectuée et malgré l'été pluvieux de 1927, les plantes se développèrent rapidement. Par sarclage, nous avons enlevé un certain nombre de pieds dans chaque parcelle, de façon à ne conserver que des plantes^{*} distantes les unes des autres de 0 m. 50.

1. Nous avons étudié l'action des produits magnésiens sur la suggestion de M. JAVILLIER. Voir : M. JAVILLIER et Mlle A. CREMIEU, *Engrais magnésiens et teneur du grain de blé en azote*. C. R. Acad. d'Agriculture : 17 oct. 1928.

Au début de la floraison, en septembre, nous avons procédé à la récolte. Nous avons effectué aussitôt les pesées des pieds de chaque lot et des organes à l'état frais ; puis, le tout bien emballé, nous l'avons transporté immédiatement à notre laboratoire à Rouen. Et c'est là que nous avons procédé à la dessiccation à l'étuve à 35° (32 à 37°) de parties aliquotes de chaque organe.

Après pulvérisation aussi fine que possible, puis séchage de nouveau à 35° nos pesées à l'état sec ont été effectuées et nous avons ensuite dosé les alcaloïdes par notre méthode : dans les feuilles, les tiges, dans quelques lots de fleurs et de racines.

b) *Résultats* : nous les donnons dans les tableaux ci-dessous :

1° Dans le tableau n° I, nous classons les plantes par engrais d'après les poids de récolte pris à l'état frais et se rapportant à la plante entière. Aucun des produits chimiques ajoutés au sol n'a paru nuire au développement de nos pieds de lupin, puisque les poids des récoltes sont supérieurs à celui du témoin.

A noter cependant que les pieds correspondant aux sels de potassium nous avaient paru moins beaux à la vue que tous les autres pieds. Nous avons été surpris de constater, après pesée, qu'ils donnaient des poids supérieurs à ceux du témoin et de certains engrais. Après dessiccation, nous avons fait la comparaison des poids de récolte et les chiffres inscrits dans les trois colonnes représentent les coefficients de rendement.

2° Dans le tableau n° II, nous avons un classement différent des plantes parengrais, d'après la teneur en alcaloïdes trouvés dans les feuilles jeunes et pour 100 parties de substance sèche. Nous en déduisons par le calcul, la dose d'alcaloïdes par pied. Et, dans les deux colonnes qui suivent, nous établissons les coefficients de rendement, en valeur absolue et en valeur relative, en prenant le témoin pour unité. De même pour les tiges.

c) *Interprétation des résultats* : il est facile de voir que les tableaux nos I et II ne se correspondent pas au point de vue du classement des engrais. Nous en déduisons que la teneur en alcaloïdes dans les organes examinés n'est pas en fonction du

TABLEAU I. — LES RÉCOLTES

Nature de l'engrais	1 ^o Poids des récoltes				1 ^o Comparaison des poids de récolte		
	Plantes fraîches (1)				Plantes sèches (2)		
	Plantes entières	Feuilles		Tiges Poids total	Plante entière	Feuilles jeunes	Tiges Poids total
		Poids total	jeunes				
1. Engrais complet.....	2.039	692	422	910	3,8	4,4	3,5
2. Engrais sans sel de mag.	1.609	435	320	735	2,8	3,3 ¹	2,8
3. Carbon. de magnésium .	1.008	365	310	506	1,8	3,1	1,9
4. Phosph. d'ammonium..	927	277	220	290	1,7	2,3	1,1
5. Nitrate d'ammonium...	927	226	209	284	1,7	2,2	1,1
6. Sulfate d'ammonium...	910	234	202	275	1,7	2,1	1,0
7. Sulfate de fer	850	230	210	240	1,5	1,7	0,9
8. Sulfate de potassium...	770	345	275	220	1,4	2,8	0,9
9. Chlor. de potassium...	750	350	285	205	1,4	2,9	0,8
10. Sulfate de manganèse ..	740	180	165	213	1,3	1,7	0,9
11. Silicate : dose $\times 10$...	601	140	120	270	1,1	1,2	1,0
12. Silicate : dose $\times 5$	570	132	118	235	1	1,2	0,9
13. Silicate : dose simple...	540	120	110	210	1	1,1	0,8
14. Témoin	537	112	96	257	1	1	1

1. *Moyenne par pied.* — A remarquer que les tiges qui, chez le témoin, avaient 2 cm. de diamètre, atteignaient facilement 4 cm., c'est-à-dire le double chez l'engrais complet. Sur les racines les nodosités étaient plus volumineuses chez ces derniers.

2. Les chiffres portés dans ces colonnes sont les coefficients de rendement par lesquels il faut multiplier le poids de la récolte du témoin pour obtenir les poids respectifs des récoltes correspondant aux différents engrais.

TABLEAU II. — LA TENEUR EN ALCALOIDES

Nature des engrais	1 ^o Feuilles jeunes				2 ^o Tiges			
	Poids		Coefficients en valeur		Poids		Coefficients en valeur	
	0,1 % de poids sec	par pied	absolue (1)	relative (2)	0,1 % de poids sec	par pied	absolue (1)	relative (2)
	mgr.	mgr.			mgr.	mgr.		
1. Engrais complet.....	233	137	1,26	5,5	82	149	2,0	7,0
2. Engrais sans sels de magnésium	227	102	1,22	4,0	80	118	1,9	5,0
3. Phosph. d'ammonium.	223	69	1,20	2,8	64	37	1,5	1,8
4. Nitrate d'ammonium .	212	62	1,1	2,5	61	35	1,5	1,7
5. Sulfate de manganèse.	205	47	1,1	1,9	63	27	1,5	1,5
6. Sulfate de fer.....	204	60	1,1	2,4	55	26	1,3	1,2
7. Sulfate d'ammonium..	203	57	1,1	2,3	58	32	1,4	1,3
8. Témoin	185	25	1	1	41	21	1	1
9. Silicate × 10	178	30	0,9	1,2	43	23	1	1,1
10. Carbon. de magnés. ..	175	75	0,9	3,0	66	66	1,6	3,1
11. Silicate × 5	163	27	0,9	1,1	46	22	1,1	1,0
12. Silicate simple	162	25	0,9	1,0	50	21	1,2	1,0
13. Sulfate de potassium..	148	49	0,8	2,0	39	19	0,9	0,9
14. Chlorure de potassium.	142	49	0,76	2,0	40	16	0,9	0,8

développement de la plante ; autrement dit, les variations en principes actifs ne sont pas parallèles aux différences de poids des récoltes.

1. C'est-à-dire par rapport à 100 parties de poids sec.

2. C'est-à-dire par rapport à un pied moyen.

Afin de lire plus facilement les résultats qui découlent des chiffres (résultats d'expériences) inscrits dans les deux tableaux, nous les avons condensés dans les graphiques ci-dessous.

Nous pouvons alors les interpréter de la façon suivante :

1^o Certains engrais ou produits chimiques agissent à la fois sur le développement de la plante et sur l'augmentation de la teneur en alcaloïdes en valeur absolue et en valeur relative : exemples les engrais complets, qui arrivent en tête de liste, les sels ammoniacaux, les sulfates de fer et de manganèse ;

2^o Les sels de magnésium méritent une mention particulière.

a) Le carbonate de magnésium qui, dans les feuilles, ne permet d'atteindre qu'un pourcentage en alcaloïdes inférieur à celui du témoin (0 gr. 173 au lieu de 0 gr. 185), se trouve donner une proportion d'alcaloïdes par pied trois fois supérieure à celle du témoin, par suite d'un très beau développement de l'appareil végétatif. Dans les tiges, la proportion en alcaloïdes pour ce produit chimique est supérieure dans les deux cas : alcaloïdes pour 100 et par pied, et nous trouvons sensiblement le même coefficient de rendement (3,1).

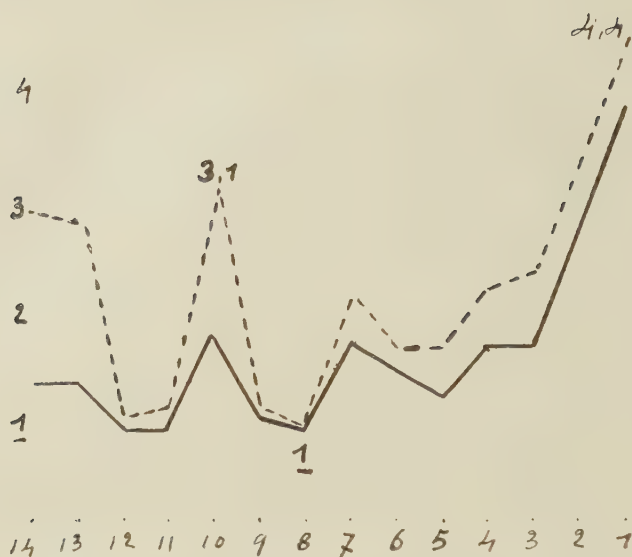
b) De même, les lupins cultivés en présence de silicate de magnésium colloïdal, ont dans leurs feuilles une teneur en alcaloïdes inférieure à celle du témoin. Les coefficients de rendement pour ce produit chimique sont très faibles.

Il en résulte que, utilisé seul dans le sol et aux doses indiquées sur l'étiquette du produit commercial, le silicate de magnésium colloïdal ne peut être considéré comme engrais.

Par contre, nous avons obtenu des rendements très intéressants avec le carbonate de magnésium employé à des doses de beaucoup supérieures en magnésium.

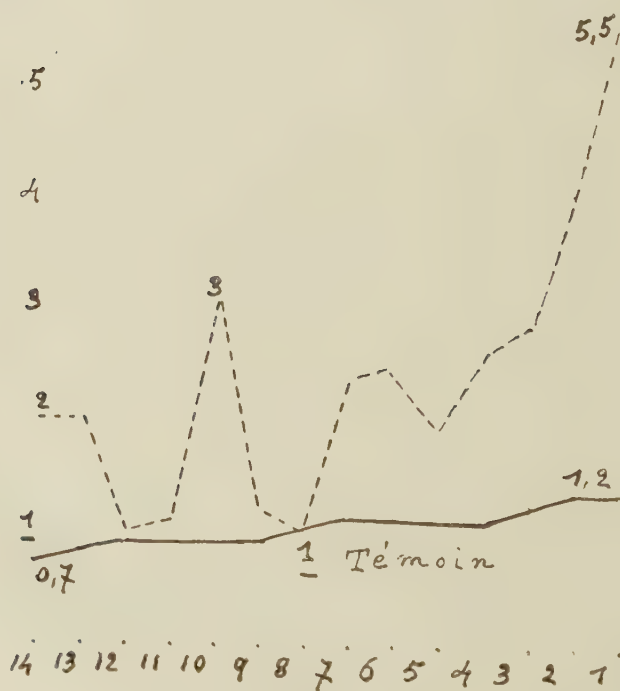
D'autre part, les résultats obtenus avec les engrais complets et les mêmes engrais privés de sels de magnésium nous autorisent à dire que ces derniers sels, à doses suffisamment élevées, et en présence d'autres engrais, paraissent jouer un rôle important dans l'augmentation des poids de récolte et des proportions

5



I. — La comparaison des poids de récolte.
Plante entière — ; Feuilles jeunes - - - -

6



II. — La teneur en alcaloïdes dans les feuilles jeunes.

Coefficients en valeur { absolue —
relative - - - -

en alcaloïdes, peut-être en favorisant, en renforçant l'action des autres engrais fertilisants.

Il en résulterait que les sels de magnésium ne seraient pas, en effet, des engrais mais des accélérateurs d'action qui, en présence d'autres engrais, permettraient à ceux-ci d'agir d'une façon plus active sur la végétation et, par suite, sur l'élaboration des alcaloïdes.

Des expériences, que nous nous proposons de reprendre, nous permettront peut être de serrer la question d'un peu plus près, relativement au rôle et à l'emploi des sels de magnésium.

3° Les sels de fer et de manganèse semblent jouer un rôle catalytique important en augmentant les poids de récolte et d'alcaloïdes.

4° Enfin, les *sels de potassium* ont une action nettement positive sur la végétation, augmentant les poids de récolte d'une façon sensible ; par contre, ils ont une action négative au point de vue teneur en alcaloïdes : ceux-ci, dosés dans les feuilles et dans les tiges, étant inférieurs en valeur absolue à ceux du témoin.

En résumé, on peut donc déduire de ces expériences que certains engrais et produits chimiques utilisés pour la culture d'une légumineuse : *Lupinus mutabilis*, var. *Cruiskanks*, se comportent différemment au point de vue des rendements en récolte et des teneurs en alcaloïdes.

1° Tous provoquent une augmentation de récolte comparativement au témoin, surtout appréciable avec les engrais complets ;

2° Certains agissent de la même façon sur l'augmentation de la teneur en alcaloïdes en valeur absolue et relativement au poids de récolte ;

3° D'autres (dans certains organes : feuilles par exemple) n'augmentent pas la teneur en alcaloïdes en valeur absolue, mais donnent une proportion plus grande par pied, par suite du poids élevé de la récolte, exemple : le carbonate de magnésium ;

4° Enfin, les sels de potassium augmentent les poids de récolte, mais agissent en sens inverse sur la teneur en alcaloïdes en valeur absolue et parfois même en valeur relative (1).

II. — *Influence d'un engrais gazeux : le gaz carbonique.* — Des expériences déjà nombreuses ont montré qu'en enrichissant la teneur de l'atmosphère en gaz carbonique jusqu'à une limite déterminée, variable avec les différentes espèces de plantes, on favorisait la croissance de ces dernières. Au cours de nos recherches de chimie végétale sur les lupins, nous avons voulu reconnaître si, à une augmentation de développement de l'appareil végétatif de la plante, dans une atmosphère plus riche en CO^2 que l'air normal, correspondait également un rendement plus élevé en alcaloïdes, à la fois en valeur absolue et relativement à la récolte.

Pour cela, nous avons fait croître la plante depuis sa germination jusqu'à l'époque de la floraison (qui correspond à sa plus forte teneur en alcaloïdes) dans une atmosphère presque entièrement close, dans laquelle nous élevions quotidiennement la teneur en CO^2 de façon à la maintenir entre des limites bien déterminées, supérieures à la dose normale, mais ne dépassant pas 6 %. Un témoin poussant dans les mêmes conditions, mais dans l'air atmosphérique, servait de terme de comparaison.

En pleine floraison, nous avons arrêté l'expérience, récolté les plantes que nous avons pesées fraîches ; après dessiccation à l'étuve à 35° nous avons dosé les alcaloïdes par la même méthode pondérale que précédemment : dans les feuilles, d'une part ; de l'autre, dans les tiges, racines, fleurs ensemble, à cause de la faible teneur dans chacun de ces organes.

1. La teneur en alcaloïdes étant très faible dans les racines (quelques milligrammes seulement) nous n'avons pas cru envisager les variations dans cet organe. Dans les fleurs, la proportion est plus élevée : 0 gr. 76 % engrais complet, 0 gr. 72 témoin ; mais, à l'époque à laquelle nous avons fait la récolte, un certain nombre de fleurs avaient fructifié sur certains pieds, sur d'autres elles étaient complètement épanouies. Enfin, certaines étaient tombées sous l'action d'un vent violent survenu fin août. Par suite nous n'avions plus d'éléments de comparaison rigoureux avec ces organes.

Ce sont les résultats de nos expériences que nous donnons ci-dessous : nos essais ont porté sur 3 lots de 10 pieds chacun qui ont poussé sur le même terrain, à quelques mètres de distance et avec le même éclaircissement, dans des cages de verre de 1 mc. 300 de capacité, constituées avec des châssis de jardinier et dont les montants latéraux et supérieurs étaient fixés solidement.

Un carreau de verre déplaçable, sur le haut, permettait l'arrosage le soir tous les deux jours. Le lot témoin était placé dans la direction la plus habituelle du vent, à 10 mètres environ des deux autres lots qui recevaient tous les jours, pendant 10 minutes et simultanément, un dégagement de gaz carbonique provenant

TABLEAU III. — POIDS DE RÉCOLTE ET TENEUR EN ALCALOÏDES

Récolte	Avec gaz carbonique				Témoin	
	1 ^o Sans engrais		2 ^o Avec engrais			
	Plante		Plante		Plante	
	fraîche	sèche	fraîche	sèche	fraîche	sèche
	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.
I						
a) Feuilles	331	46,34	350	49,0	217	30,38
b) Plantes sans les feuilles...	332	45	381	49,5	243	31
c) Plantes entières	663	91,34	731	98,5	460	61,38
II						
Alcaloïdes.....	id.	% sec	id.	% sec	id.	% sec
a) dans les feuilles	0,087	0,187	0,098	0,200	0,057	0,188
b) dans le reste de la plante.	0,0057	0,013	0,0061	0,012	0,0032	0,010
c) dans les plantes entières ..	0,0927	0,200	0,1041	0,212	0,0602	0,198

TABLEAU IV. — COMPARAISON DES POIDS DE RÉCOLTE
ET DES TENEURS EN ALCALOÏDES

1^o Récoltes : plantes fraîches, 10 pieds,

	Feuilles	Plantes entières
CO ² {	avec engrais 1,61 (1)	1,59 (1)
	sans engrais 1,53	1,44
Témoin	1	1

2^o Alcaloïdes correspondants.

	pour cent de poids sec				Plantes fraîches	
	Dans les feuilles	Coefficient en valeur absolue	Dans les plantes entières	Coefficient en valeur absolue	Récolte totale	Coefficient en valeur absolue
CO ² {	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.
	avec engrais .. 0,20	1,06 (1)	0,212	1,07 (1)	0,1041	1,73 (1)
CO ² {	sans engrais ... 0,187	1	0,200	1	0,0927	1,54
	Témoin	0,188	1	0,198	1	0,0602

d'un tube à acide carbonique liquide (2) fixé entre les deux cages jumelées : l'un de ces lots avait été arrosé au début de la germination à l'aide d'une solution de sels minéraux représentant l'engrais complet que nous avons employé précédemment et à la même dose.

1. Les coefficients de rendement sont les chiffres par lesquels il faut multiplier les poids de récolte ou d'alcaloïdes du témoin pour obtenir les poids correspondants des deux autres plantes.

2. Nous sommes heureux de remercier ici M. GEORGES CLAUDE et M. le Directeur de la brasserie GRUBER de Melun qui ont eu l'amabilité de nous fournir régulièrement les tubes à acide carbonique liquide nécessaires pour toute la durée de nos expériences.

Afin de suivre les variations de la teneur en CO^2 que nous faisons dégager le matin vers 8 heures dans les deux cages jumelées, nous avons pratiqué pendant deux mois (très régulièrement pendant le premier mois), et cela trois fois par jour, le dosage de CO^2 une heure après le dégagement, quatre heures après (vers midi), dix heures après (vers 18 heures).

Nous avons employé la méthode suivante de dosage du gaz carbonique :

a) *Principe* : on absorbe le CO^2 d'un certain volume d'air, retiré de la cage par aspiration, à l'aide d'une solution titrée de potasse que l'on titre à nouveau. Par différence on a la quantité de potasse et, par suite, celle de CO^2 combiné.

b) *Technique* : 1) *mode opératoire* : la cage dans laquelle nous faisons nos prises d'air était en communication avec l'extérieur par un tube de verre que l'on ajustait à un barboteur en verre, à plateaux perforés de nickel (1). Ce dernier appareil était relié à un flacon aspirateur de 10 litres dont on faisait écouler l'eau pour la prise d'air.

2) *Calculs* : le titrage de la potasse était effectué en présence de la phthaléine avec $\text{HCL N}/10$ et nous tenions compte de ce fait que la coloration rouge de la liqueur disparaissait totalement quand la moitié seulement de l'acide carbonique du carbonate neutre s'était fixée sur le carbonate non décomposé pour le transformer en bicarbonate.

Un tableau, dressé à l'avance, nous permettait de calculer immédiatement, d'après le volume de solution acide employé pour le titrage, la quantité de gaz carbonique contenue dans la prise d'air et, par suite, dans la cage.

c) *Résultats*. — Les nombreux dosages que nous avons effectués aux différentes heures de la journée nous ont montré que, le matin, nous avions une teneur en CO^2 comprise entre 5-6 % (2),

1. Dont l'emploi nous avait été conseillé par G. André qui l'utilisait dans ses recherches à l'Institut Agronomique.

2. Au début de nos expériences, nous avions, après un dégagement de quinze minutes, une teneur de 10 % mais un certain nombre de pieds de

l'après-midi nous n'avions plus que 1 %, et le soir 2 ‰ environ, par suite des fuites que nous n'avons pu empêcher et vraisemblablement d'une absorption par les plantes et par la terre.

La lecture de ces tableaux nous montre que :

1^o Par suite de l'élévation de la teneur en gaz carbonique de l'atmosphère, le poids de la récolte a augmenté dans les deux cages par rapport au témoin ; l'augmentation est plus élevée lorsque, avec le gaz carbonique, engrais gazeux, la plante a reçu en même temps l'influence d'engrais minéraux répandus sur le sol : les coefficients de rendement donnés pour les feuilles seules et pour les plantes entières sont compris entre 1,4 et 1,6 ;

2^o Par contre la proportion d'alcaloïdes en valeur absolue, c'est-à-dire rapportée à 100 gr de poids sec, feuilles ou plantes entières, n'a pas augmenté puisque les coefficients de rendement ne dépassent pas l'unité. Mais, si nous envisageons la teneur en alcaloïdes relativement au poids de récolte, nous trouvons des augmentations sensibles avec des coefficients de rendement de 1,54 et 1,73.

En résumé, sous l'action du gaz carbonique, il y a eu augmentation du poids de récolte, ce qui était à prévoir, mais non élévation dans la teneur en alcaloïdes en valeur absolue. L'augmentation que l'on constate cependant est due à un poids supérieur de récolte.

Conclusions. — Il résulte de nos expériences avec les deux groupes d'engrais envisagés (engrais chimiques et engrais gazeux CO²) que, dans tous les cas, nous avons obtenu un poids de récolte plus élevé, variable suivant la nature des engrais et suivant leur groupement ; que, pour certains engrais chimiques solides la teneur en alcaloïdes augmente sensiblement en valeur absolue ; pour d'autres (ex. : carbonate de magnésium) et pour l'engrais gazeux, le coefficient se tient au voisinage de l'unité ou même au-dessous.

lupin s'inclinaient rapidement vers le sol pour ne se relever qu'une heure ou deux après. Nous avons pensé que la quantité de gaz était trop élevée et pouvait nuire au développement de la plante. C'est pourquoi nous avons réduit la durée du dégagement à 10 minutes.

Par contre, si nous envisageons la production d'alcaloïdes par rapport au poids de récolte (et ceci peut être intéressant pour la culture de certaines plantes à alcaloïdes, dans la pratique agricole) nous obtenons des rendements en alcaloïdes qui, pour certains engrais, sont relativement élevés.

b) *Suppression d'alimentation azotée.*

En 1929, nous avons effectué sur le lupin une expérience semblable à celle de CLAUTRIAU sur les rameaux de thé. Le *principe* était le suivant : a) Faire développer le lupin à la lumière dans des solutions nutritives avec ou sans sels azotés ; b) doser les alcaloïdes dans la plante, après quelques jours de culture ; c) comparer les résultats.

Mode opératoire : a) Des jeunes plantules de lupin, 0 gr. 10 de longueur, dont les cotylédons ne sont pas encore écartés, développées sur le même terrain, sont récoltées ; les racines sont débarrassées de la terre par lavage et elles sont placées dans un milieu de culture de Molliard contenant des billes de verre comme support ; b) 25 plantules croissent en milieu non azoté (milieu de MOLLIARD) ; 25 autres en milieu azoté (liquide de MOLLIARD additionné de 0 gr. 25 de nitrate d'ammonium par litre) ; c) après 25 jours, nous faisons les récoltes, pesons les plantes fraîches et, après dessiccation à l'étuve à 35°, dosons les alcaloïdes dans les deux lots.

Résultats : au début de la culture, les plantules en milieu privé d'azote paraissent moins vigoureuses que les autres, mais bientôt elles se développent comme celles en milieu azoté ; les cotylédons s'écartent, les feuilles apparaissent et après 25 jours (quand il nous paraît que l'ensemble des deux lots cesse de s'accroître) nous arrêtons l'expérience et faisons les comparaisons en ramenant à 100 (100 gr., 100 plantules) les résultats :

PLANTULES.

Culture	Nombre pour 100 gr.	Poids sec de 100 plantul.	Alcaloïdes pour	
			100 gr.	100 plantul.
Milieu azoté	341	49	2,65	1,325
Milieu non azoté	340	49	2,62	1,310

Conclusion : La faible différence d'alcaloïdes constatée dans 100 plantules ne permet pas de conclure que les alcaloïdes ont été utilisés par la plante.

CHAPITRE XII

CONDITIONS D'ÉCLAIREMENT ET CONDITIONS CLIMATÉRIQUES

a) *Influence de l'éclairement* : en 1926, nous avons déterminé les variations de poids de récolte et de teneur en alcaloïdes chez le lupin suivant l'éclairement. —

1. *Principe* : a) Nous avons fait pousser du lupin dans des conditions différentes d'éclairement : un lot en pleine lumière, un autre à l'ombre d'une toile ; b) nous avons fait deux récoltes dans chacun de ces lots : l'une au début de la floraison, l'autre en pleine fructification ; c) nous avons déterminé le poids de récolte et la teneur en alcaloïdes dans les différents organes, et nous avons fait des comparaisons.

2. *Technique opératoire* : nos plantations ont été effectuées dans le jardin d'essai du Laboratoire de Biologie végétale de Fontainebleau, dans le grand carré qui nous avait été réservé pour nos expériences par le sous-directeur du Laboratoire, et que nous avons toujours utilisé dans la suite. Les semis ont été faits au début de juin (5 juin), la première récolte le 26 juillet, la seconde le 16 août. L'été fut particulièrement ensoleillé cette année-là et le lot exposé en pleine lumière reçut presque quotidiennement l'action des radiations solaires. A 10 mètres de lui nous avons fait installer presque verticalement une grande toile aux mailles très serrées qui maintenait entièrement à l'abri du soleil notre second lot.

Des arrosages fréquents des deux lots furent faits en fin de journée.

Pour les récoltes, nous avons choisi dans chaque lot 10 pieds sensiblement de même développement, nous les avons divisés par organes et nous avons pris la moyenne comme poids de récolte d'un pied.

3. *Résultats* : Le tableau I ci-dessous nous donne les poids de récolte à l'état frais puis à l'état sec, dans les 4 cas, pour la plante entière et pour les différents organes.

TABLEAU I. — LES POIDS DE RÉCOLTE

Poids frais (1) et poids sec (2) par pied de chaque lot :
moyenne de 10 pieds sensiblement de même diamètre.

	Plante entière	Feuilles	Tiges	Racines	Fleurs	Gousses
Floraison :						
	gr.					
Ombre (1)	440	122	193	33	92	
— (2)	80,22	18,3	34,65	13,20	10,12	
Lumière (1)	551	161	252	36	102	
— (2)	100,17	24,15	50,40	14,40	11,22	
Fructification :						
Ombre (1)	574	172	255	37	»	110
— (2)	105,9	25,80	51,00	14,8	»	14,3
Lumière (1)	701	181	260	38	42	180
— (2)	122,37	27,15	52,00	15,20	4,62	23,4

TABLEAU II. — LA TENEUR EN ALCALOÏDES

	% poids sec					Par pied				
	Feuilles	Tiges	Rachnes	Fleurs	Gousses	Feuilles	Tiges	Rachnes	Fleurs	Gousses
Floraison :										
Ombre.....	0,169	0,0082	0,0022	0,741		0,0310	0,0032	0,0033	0,0750	gr. 0,1095
Lumière	0,337	0,0140	0,0020	0,793		0,0814	0,0071	0,0003	0,0890	0,1778
Fructification :										
Ombre	0,046	0,0060	0,0020		0,356	0,0120	0,0031	0,0003	»	0,0510
Lumière.....	0,117	0,0120	0,0015	0,432	0,324	0,0320	0,0064	0,0002	0,0200	0,1336

Variations dans la teneur en alcaloïdes par pied

Floraison..... 0 gr. 4778 0 gr. 1095 = 0 gr. 0683

Fructification .. 0 gr. 1336 0 gr. 0664 = 0 gr. 0672

lumière ombre : différence

Le tableau II indique la teneur en alcaloïdes par organe : d'une part, pour 100 d'organe sec, c'est-à-dire en valeur absolue; de l'autre, relativement au poids de récolte, c'est-à-dire par pied. Nous l'avons fait suivre des variations rapportées à un pied moyen.

4. *Interprétation des résultats* : a) *le rendement en poids sec par pied* (et par suite par organe) fut plus grand pour les pieds au soleil que pour les pieds à l'ombre et dans les deux récoltes, c'est-à-dire en pleine floraison et au moment de la fructification.

Dans la première récolte, la différence par pied (portant surtout sur les tiges et aussi sur les feuilles) atteint presque 20 gr. : $100,17 - 80,22 = 19$ gr. 95. Dans la seconde récolte, la différence (intéressant surtout les gousses) atteint $122,37 - 105,90 = 16$ gr. 47.

Pour 10 pieds les variations de poids de récolte se trouvent donc comprises entre 165 et 200 grammes.

b) *La teneur en alcaloïdes* :

1) *Pour 100 d'organe sec* : est beaucoup plus élevée à la lumière, notamment en ce qui concerne les feuilles, puisque l'on trouve des différences de : 0 gr. 327 — 0 gr. 169 = 0 gr. 168, c'est-à-dire du simple au double (floraison) ; de 0 gr. 117 — 0 gr. 046 = 0 gr. 071, c'est-à-dire de presque les deux tiers (fructification). Les feuilles ensoleillées ont donc au moins le double d'alcaloïdes par rapport à celles ombragées. C'est un résultat qui concorde pour le lupin avec celui que Goris et Deluard ont trouvé pour les feuilles de belladone, en 1922.

2) *Par pied* : les différences dans la teneur en alcaloïdes donnent comme chiffres 0 gr. 0683 (floraison), 0 gr. 0672 (fructification) ; dans ce dernier cas la différence dépasse la teneur en alcaloïdes dans la plante à l'ombre : 0 gr. 0664. En rapportant à 10 pieds, nous trouvons des variations de 0 gr. 67 — 0 gr. 68 d'alcaloïdes.

5. *Nos conclusions* viennent confirmer celles des auteurs précédents : l'exposition au soleil favorise le rendement du lupin,

augmente la teneur en alcaloïdes, particulièrement dans les feuilles. Il y a à la fois augmentation en valeur absolue et en valeur relative, c'est-à-dire par rapport au poids de récolte.

b) *Cultures par temps sec et par temps humide.*

1^o RANSON et HENDERSON avaient constaté dans leurs expériences sur la belladone, en 1912 (exposés plus haut, voir p.) que les alcaloïdes, par année pluvieuse, pouvaient baisser de moitié dans les feuilles et dans les tiges.

2^o Nous avons été favorisé par les circonstances pour étudier les variations dans la récolte des lupins et dans leur teneur en principe actif sous l'influence de l'état hygrométrique de l'air : *temps très pluvieux, temps très sec.*

En effet, au cours des cultures que nous avons entreprises, pendant plusieurs années de suite dans le jardin d'essai du Laboratoire de Biologie végétale de Fontainebleau, sur le même terrain et avec des graines de même origine (1), nous eûmes successivement deux années très différentes au point de vue atmosphérique :

L'été 1927 fut très pluvieux ; pendant les cultures que nous avons faites pour étudier l'action des engrais et produits chimiques sur le développement des lupins et sur leur teneur en alcaloïdes, nous avons calculé que, pendant la durée des cultures, c'est-à-dire du 15 juillet au 20 septembre, le nombre d'heures de soleil fut seulement de 377.

L'été 1928 fut, au contraire, très sec et pendant les cultures entreprises pour étudier les variations de teneur en alcaloïdes suivant les procédés de dessiccation, et qui durèrent 60 jours, le nombre d'heures de soleil fut de 540, ce qui nécessita des arrosages assez fréquents.

Les conditions climatiques réalisées à Fontainebleau pendant ces deux étés successifs étaient donc tout à fait favorables pour effectuer nos comparaisons, que nous n'avons envisagées seulement qu'en fin septembre 1928. Mais nous avions à cette

1. Graines de lupin provenant des récoltes faites pour nous par la maison Villemorin-Andrieux de Paris.

époque tous nos éléments d'études : en effet, en 1927 les données recueillies sur le lot témoin pouvaient nous servir ; en 1928, un lot cultivé au même endroit, et pour les études que nous exposerons plus loin, était tout désigné.

Nous donnons, dans les tableaux ci-dessous, les *résultats* de nos expériences. Nous avons employé la même technique opératoire que pour l'étude de l'action des engrais (récolte, pesée, séchage, dosage des alcaloïdes, etc...).

Culture par temps sec et par temps humide.

TABLEAU N° I. — LES POIDS DE RÉCOLTES

Poids par pied : moyenne de 5 pieds sensiblement de mêmes dimensions.

	Années	Plante entière	Feuilles		Poids total			
			totales	jeunes	Tiges	Fleurs	Gousses	Racines
A	1928	620	220	133	262	85	15	38
Plante fraîche ..	1927	537	112	96	257	105	28	35
	Dif.	83 gr.	108	37	5			3
B	1928	111,90	33	28,5	52,40	9,35	1,95	15,2
Plante sèche ...	1927	97,39	16,8	13,4	51,40	11,55	3,64	14,0

TABLEAU N° II. — COMPARAISON DES POIDS DE RÉCOLTES
Plantes sèches.

	Plante entière	Feuilles totales
	gr.	gr.
1928.....	111,90	33
1927.....	97,39	16,8
Différences	14,51	16,2

TABLEAU N° III. — LA TENEUR EN ALCALOÏDES

	Pour cent				Par pied	
	de poids frais		de poids sec		1928	1927
	1928	1927	1928	1927		
Fleurs	0,1026	0,0792	0,932	0,720	0,0872	0,0834
Feuilles.....	0,0376	0,0277	0,2500	0,185	0,0827	0,025
Gousses	0,1209	0,0092	0,930	0,707	0,0181	0,0257
Tiges	0,0034	0,0022	0,017	0,011	0,0089	0,056
Racines	0,0010	0,0009	0,0025	0,0022	0,0004	0,0003
Total.....			2,1315	1,6252	0,1973	0,1397

Différences :

Pour 100 de poids sec 0 gr. 5063

Pour 100 gr. de :

Fleurs sèches 0 gr. 212

Feuilles sèches..... 0 gr. 065

Gousses sèches 0 gr. 223

Par pied 0 gr. 0576

Dans le tableau n° I, nous donnons les moyennes par pied des poids de récolte en plantes fraîches et en plantes sèches pour les années 1928 et 1927 et les différences entre ces deux années. Nous envisageons d'une part la plante entière ; d'autre part les différents organes.

Dans le tableau n° II, nous comparons les poids de récolte à l'état sec pour les plantes entières et pour les feuilles.

Le tableau n° III nous fournit les teneurs en alcaloïdes : d'une part pour cent de poids frais et de poids sec ; d'autre part, par pied, correspondant aux deux années envisagées. Nous en tirons les différences : 1 pour cent de poids sec correspondant à tous

les organes : 0 gr. 5063 ; 2. par pied : 0 gr. 0576, en faveur de 1928. Nous calculons également les différences pour les fleurs, les feuilles et les gousses.

Interprétation des résultats. — Les différences de poids de récolte, notamment en ce qui concerne les feuilles, sont très appréciables, puisque nous trouvons 83 gr. pour les plantes entières fraîches, et 108 gr. pour les feuilles fraîches.

La teneur en alcaloïdes est également plus élevée par année sèche, puisque nous trouvons une différence de 0 gr. 1973 — 0 gr. 1397 = 0 gr. 0576 par pied entre les deux années, soit une augmentation de 41 gr., 23 % en prenant pour base la proportion obtenue en 1927, c'est-à-dire près de moitié. Ce sont les proportions contenues dans les feuilles qui varient beaucoup : nous trouvons en effet, une différence de 0.0827 — 0.0250 = 0 gr. 0577 par pied.

Conclusion. — Ainsi que l'avaient déjà constaté les auteurs anglais en 1912, nous avons eu également une diminution dans la teneur en alcaloïdes par année pluvieuse, mais, grâce à la façon de conduire nos expériences et de faire nos calculs nous avons pu constater à la fois la diminution en valeur absolue, par 100 gr. de poids sec d'organe et la diminution en valeur relative, c'est-à-dire par rapport à la récolte (proportion par pied).

c) *Expériences comparatives à la lumière et à l'obscurité.* — Nos recherches ont été faites en 1926 au laboratoire de la Pharmacie de l'Hospice général de Rouen.

1^o *Principe* : 1. Placer des plantules de lupin, dès la germination, les unes à l'obscurité complète, les autres à la lumière dans une salle bien éclairée ; 2. après un certain temps de développement, comparer les plantes : a) au point de vue végétatif ; b) au point de vue teneur en alcaloïdes et en azote protéique.

2^o *Technique* : 1. Les graines furent semées dans 6 caisses contenant de la terre de même origine (terre de jardin de Sot-

teville) (1) : trois de ces caisses furent placées dans une pièce bien éclairée (recevant le soleil pendant environ 8 heures dans la journée) ; les trois autres furent déposées dans la même pièce, mais dans un réduit qui sert de chambre noire et est complètement obscure. Après 34 jours les plantes étaient suffisamment développées ; les plantes étiolées à l'obscurité commençaient à s'incliner vers la terre. Il était temps d'arrêter l'expérience. D'autre part, les pieds à la lumière solaire étaient près de la floraison.

3^o *Résultats*. 1. *Appareil végétatif* : les plantes développées à l'obscurité avaient pris tous les caractères des plantes étiolées : les cotylédons étaient demeurés blanchâtres ; les tiges entièrement blanchâtres avaient 0 m. 40 de longueur environ ; elles étaient gorgées d'eaux épaisses et molles. Des coupes transversales nous montrèrent un tissu ligneux très clairsemé ; le parenchyme cortical plus épais que dans la tige aérienne normale était rempli de lacunes ; les feuilles n'avaient pris aucune trace de chlorophylle, les pétioles étaient allongés et très cassants et le parenchyme foliaire très lacuneux avait des nervures très réduites (2).

Le rendement en poids de la récolte de 1400 pieds fut un peu plus élevé à l'obscurité qu'à la lumière : soit 197 gr. 14 contre 190 gr.

2. *Teneur en alcaloïdes* : les dosages ont porté sur 100 pieds de la récolte, mais divisés en deux lots : d'une part les cotylédons, de l'autre le reste de la plante le tout fut séché à 35° et pulvérisé.

1. Nous avons reconnu que la terre du jardin de l'Hospice Général de Rouen, terre très calcaire, ne convenait pas à la culture du lupin. Par contre, celle du jardin de l'Hospice de Sotteville, terre sablonneuse comme celle de Fontainebleau, et dans laquelle nous avons fait nos expériences l'année précédente, était particulièrement favorable.

2. La localisation micro-chimique ne nous donna pas de renseignements appréciables.

	Pour 100 gr. sec	Par pied	Pour 100 pieds
1. <i>Lumière</i> :	gr.	gr.	gr.
1° Cotylédons	1,00	0,0150	1,50
2° Le reste de la plante	0,57	0,0082	0,82
Total.....	1,57	0,0232	2,32
2. <i>Obscurité</i> :			
1° Cotylédons	1,02	0,0171	1,71
2° Le reste de la plante	0,70	0,0088	0,88
Total.....	1,72	0,0259	2,59

3. *Variations de l'azote protéique* : les dosages ont été effectués sur des lots de plantes entières traités préalablement par l'alcool tartrique :

	Pour 100 gr. sec	Par pied	Pour 100 pieds
1. <i>Lumière</i>	gr. 3,44	gr 0,62	gr. 62,00
2. <i>Obscurité</i>	3,14	0,581	58,10

4° *Interprétation des résultats* : nous constatons une augmentation de teneur en alcaloïdes à l'obscurité : la différence est assez considérable : 0 gr. 27 pour la récolte, 0 gr. 13 pour 100 grammes, mais nous sommes loin d'avoir les chiffres donnés par RÏPERT avec la belladone et qui pouvaient aller du simple au double dans les feuilles. Contrairement à cet auteur nous avons trouvé une diminution dans la teneur en azote protéique à la fois en valeur absolue % et relativement à 100 pieds et nous sommes d'accord, à ce sujet, avec WEWERS dont nous avons connu les résultats plus tard (1929).

d) *Variations de provenance* : l'influence de la provenance des plantes joue un certain rôle sur la teneur en alcaloïdes. Il y a lieu d'envisager : α) les changements d'altitude : culture en plaine et en montagne ; β) les changements de latitude, c'est-à-dire de température ; culture dans des régions tempérées et dans des régions chaudes.

α) *Changements d'altitude* : nous avons cultivé la même espèce de lupin (graines de même origine) à différentes altitudes dans nos montagnes et en plaine (jardin de Fontainebleau) la même année et sensiblement à la même époque (juillet-août) ; nos récoltes furent faites après deux mois de végétation (plante non fleurie), car au Lautaret et au Pic du Midi les plantes n'arrivèrent pas à fleurir pendant le court été à ces altitudes élevées. — Dans les Pyrénées, la culture a été faite au Jardin botanique alpin de l'Observatoire du Pic du Midi, à 2.850 m. et dans de la terre de Fontainebleau que G. BONNIER avait fait transporter quelques années auparavant en cet endroit pour des essais de culture de plantes (1) ; dans les Alpes la culture a été faite, d'une part, dans le jardin de l'Institut Botanique alpin du Lautaret, à 2.210 m. et, de l'autre, dans le jardin de l'instituteur de Villard d'Arène, 1.700 m. Enfin notre quatrième essai fut fait au jardin alpin du mont Revard, 1.510 m.

Au Lautaret, et au Pic du Midi, notre lupin prit la forme « naine » qui caractérise la plupart des plantes de haute montagne, les tiges avaient 0 m. 15 à 0 m. 20 de longueur ; par contre, les racines étaient très développées, aussi longues que les tiges ; en diminuant d'altitude, nous avons constaté un plus grand développement des tiges par rapport à celui des racines.

Au point de vue anatomique nos lupins de montagne présentaient les caractères bien connus des plantes qui poussent naturellement dans les régions élevées.

1. Le fait nous a été communiqué par le Directeur de l'Observatoire du Pic, dont le jardinier s'est occupé de nos cultures.

VARIATIONS DE LA TENEUR EN ALCALOÏDES SELON LA PROVENANCE

1° Suivant l'altitude (dans les feuilles)				2° Suivant la latitude				
Provenance	Altitude	alcaloïdes %	Par pied		Provenance	alcaloïdes %	Par pied	
			poids sec	alcaloïdes			poids sec	alcaloïdes
	mètres	gr.	gr.	gr.	<i>Maroc (Rabat) :</i>	gr.	gr.	gr.
<i>Pic du Midi de Bigorre.....</i>	2.850	0,4699	5	0,023	1 ^o Feuilles	0,3436	20	0,0645
<i>Lautaret</i>	2.270	0,3412	4	0,014	2 ^o Tiges	0,0184	25	0,0047
<i>Villard d'Arène (Htes-Alpes) .</i>	1.700	0,298	5	0,015	3 ^o Racines.....	0,0015	15	0,0002
<i>Mont Revard.....</i>	1.510	0,235	7	0,018	<i>Fontainebleau ;</i>			
<i>Fontainebleau</i>		0,280	20	0,056	1 ^o Feuilles	0,280	20	0,056
					2 ^o Tiges	0,012	33	0,0048
					3 ^o Racines.....	0,0015	15	0,0002

Au point de vue physiologique qui nous intéresse ici, nous avons pu constater que le % en alcaloïdes augmentait dans les feuilles à mesure que la plante se concentrait sur elle-même pour ainsi dire ; mais en rapportant les résultats à un pied et en comparant avec le lupin cultivé en plaine (Fontainebleau) on voit que la teneur en principe actif varie en quelque sorte en raison inverse, vraisemblablement à cause du faible rendement en feuilles par pied ; dans la montagne il nous a fallu, en effet, 25 pieds de lupin du Lautaret pour faire le dosage des alcaloïdes dans 100 gr. de feuilles sèches, alors que 5 de Fontainebleau suffisaient.

β) *Changements de latitude* : nous avons voulu savoir si le lupin cultivé sous un climat chaud (climat du midi) avait une teneur plus élevée en alcaloïdes que celui (même espèce, même origine) cultivé dans nos régions tempérées de Fontainebleau ou de Rouen. Pour cela nous avons confié nos semences à M. R. MIÈGE (1), Directeur de la Station de sélections et d'essais de semences du gouvernement chérifien, à Rabat, qui s'est chargé avec un soin tout particulier de nos cultures, récoltes, séchage et transport selon nos indications. La culture fut faite en sol siliceux, sous-sol argileux en février-mars, sans irrigation, 2 binages ; la température maxima atteint 46°.

Nous donnons les résultats ci-dessus en comparaison avec ceux de Fontainebleau obtenus deux ans avant et prélevés au début de la floraison c'est-à-dire après deux mois de végétation. Nous pouvons constater dans les feuilles une faible élévation de teneur en alcaloïdes à la fois % et par pied pour les lupins du Maroc ; dans les tiges une proportion % plus grande pour ces derniers, par pied elle est sensiblement la même.

1. Nous remercions bien sincèrement ici M. R. MIÈGE de l'heureuse collaboration qu'il nous a apportée dans cette expérience.

CHAPITRE XIII

MIGRATION PENDANT LA GERMINATION DES GRAINES ET LA FORMATION DES PLANTULES

Connaissant en partie les résultats obtenus par les auteurs sur ce sujet, nous avons voulu savoir si les graines de lupin, au moment de leur germination, donnaient des plantules plus riches qu'elles-mêmes en alcaloïdes (teneur rapportée à l'unité d'organe) ou si elles perdaient de leurs alcaloïdes et ce qu'ils devenaient :

α) Dans des *expériences préliminaires* effectuées en 1926-1928, nous avons constaté que l'eau dans laquelle les graines avaient été mises à macérer avant d'être semées, renfermait après trois jours des quantités d'alcaloïdes (1) loin d'être négligeables : 0 mg. 20 par graine.

Si, en expérimentant sur des graines ayant perdu leur pouvoir germinatif (graines de la récolte 1923), on poussait l'expérience pendant un temps de macération beaucoup plus long : 10 jours, 20 jours, 30 jours (2), nous allons constater le passage dans l'eau ordinaire d'une forte proportion d'alcaloïdes qui, après 10 jours de macération, était sensiblement égale à celle qui restait dans les graines (0 mg. 830 par graine dans l'eau de

1. Si la macération est effectuée dans de l'eau légèrement acidulée par So^4H^2 (V gouttes pour 200 c^3), les proportions augmentent quotidiennement et nous trouvons 0 mg. 13 après 24 h. ; 0 mg. 26 après 48 h. et 0 mg. 30 après 72 heures.

2. La macération avait lieu en milieu stérile (récipients et liquides stérilisés) ; les graines avaient été préalablement stérilisées à la surface par un séjour de 5 heures dans de l'eau oxygénée.

macération contre 0 mg. 925 restant dans la graine) ; elle est très supérieure à cette dernière après 20 jours : 1 mg. 06 contre 0 mg. 67 et *a fortiori* après 30 jours : 1 m. 28 contre 0 m. 58 (1).

β) *Nos expériences, 1929, sur la germination des graines : 1^{re} Série a)* Principe ; rechercher si au cours de la germination à la lumière :

1. il y a diminution ou augmentation des alcaloïdes dans les plantules.

2. dans le cas où il y aurait diminution, rechercher s'il y a dégagement à l'état gazeux de l'alcaloïde volatil (voir expériences de CIAMICIAN, 1922, ou d'un produit de sa désagrégation : l'ammoniaque (voir expériences de WEEVERS, 1929).

a) Technique opératoire : 30 gr. de graines (150) sont mises à germer sur du coton humide et sous un entonnoir dont les parois sont imbibées de So^4H^2 à 1/20 et en présence d'un cristalliseur en verre renfermant le même acide dilué. Après deux jours toutes les graines ont germé et se sont bien développées dans cette atmosphère close. Durée de l'expérience 6 jours, nos plantules avaient 0 m. 03 de longueur au maximum.

b) Résultats : a) les parois de l'entonnoir furent rincés avec de l'eau distillée pour entraîner l'acide.

a) Recherche des alcaloïdes à l'aide du Réactif de Bouchardat dans l'eau acidulée de rinçage et dans l'acide du cristalliseur après neutralisation : absence.

β) Recherche de l'ammoniaque dans les mêmes liqueurs, à l'aide du Réactif de NESSLER (après neutralisation) : coloration jaunâtre.

R. — L'acide sulfurique employé fut examiné au point de vue de sa teneur possible en ammoniaque : absence.

Contre-épreuve : une expérience semblable (même durée) fut effectuée avec 30 gr. de graines de *Lathyrus cicera* (gesse jarosse) espèce dans laquelle nous avons constaté l'absence d'al-

1. Avec l'eau acidulée nous trouvons 0 mg. 99 contre 0 mg. 77 dès le 10^e jour.

caloïdes (⁵⁴) : les liqueurs acides neutralisées ne donnèrent aucune trace de coloration avec le Réactif de NESSLER.

b) *Détermination de la teneur en alcaloïdes* : 0 gr. 193 pour 100 plantules contre 0 gr. 252 dans 100 graines.

c) *Détermination de l'azote protéique* : 0 gr. 990 pour 100 plantules contre 1,44 dans 100 graines.

Il y a donc, à la lumière, diminution à la fois en alcaloïdes et en azote protéique dans les plantules par rapport aux graines.

2^e *Série* : Mais il était intéressant de connaître si, avec des plantules plus âgées, les faits se passaient de la même façon : pour cela, dans une seconde série d'expériences, nous avons fait germer des graines sous cloche, dans des conditions différentes d'éclairement (à la lumière et à l'obscurité) et, quand les plantules eurent atteint une certaine hauteur nous avons effectué les dosages comparatifs. Au cours de la germination, l'air de la cloche était aspirée dans un liquide acide permettant de doser l'alcaloïde ou l'ammoniaque pouvant être entraînés.

Mode opératoire : des lots de 30 gr. de graines (150) préalablement stérilisées à la surface dans de l'eau oxygénée, sont mis à germer sur du coton humide dans des cristallisoirs recouverts de cloche à double tubulure : quatre lots sont placés dans une pièce bien éclairée, un cinquième à l'obscurité. Nous avons adapté aux deux tubulures de chaque cloche une série de flacons laveurs : côté gauche (entrée de l'air) un premier flacon contenant de l'acide dilué pour arrêter l'ammoniaque atmosphérique, et un deuxième flacon contenant de la soude diluée pour débarrasser l'air aspiré des vapeurs acides ; côté droit (aspiration) un troisième flacon renfermant Vc^3 d'eau distillée additionnée de III gouttes de solution d'orangé et $SO^4H^2N/10$ q. s. pour faire virer le liquide au rouge ; un quatrième flacon, dit de sûreté, renfermait de l'acide dilué.

Tous les jours à partir de la germination, nous avons aspiré à l'aide d'une trompe à eau l'air de la cloche de façon à recueillir dans le flacon n° 3 l'alcaloïde volatil ou l'ammoniaque qui auraient pu se dégager.

Résultats : 1° à l'obscurité : a) recherche de l'alcaloïde et de l'ammoniaque : absence.

b) 1. dosage des alcaloïdes : 0 gr. 316 pour 100 plantules contre 0 gr. 212 dans 100 graines.

2. Azote protéique : 0 gr. 900 pour 100 plantules contre 1 gr. 44 dans 100 graines. Donc augmentation des alcaloïdes dans les plantules par rapport à la graine et diminution des protéiques.

2° à la lumière : a) recherche de l'alcaloïde : absence. b) recherche de l'ammoniaque : présence : titrage après mise en liberté par de la soude et entraînement par de la vapeur d'eau dans V^{c3} de $SO^4H^2N/10$: 1 mgr. 8 pour II (1) correspondant à 0 gr. 011 d'alcaloïdes (spartéine) pour 100 plantules ; 4 mgr. pour III (2) correspondant à 0 gr. 0276 d'alcaloïdes. c) les teneurs en alcaloïdes et en azote protéique sont consignées dans le tableau suivant que nous pouvons interpréter ainsi :

1. quand les plantules sont encore jeunes (hauteur 0 m. 05-0 m. 10), la proportion d'alcaloïdes pour 100 unités est inférieure à celle contenue dans les graines, mais elle augmente sensiblement ; 2. dans les plantules plus âgées la proportion d'alcaloïdes dépasse celle de la graine et continue de s'accroître.

Ainsi donc, la teneur en alcaloïdes dans les plantules, suivant l'âge, est inférieure ou supérieure à celle de la graine, alors qu'à l'obscurité nous trouvons dans les plantules jeunes une teneur supérieure. Qu'est devenue la petite quantité d'alcaloïdes qui, à la lumière, a disparu au début de la germination ? A-t-elle été transformée en matière protéique ou décomposée ?

Nous constatons que la proportion d'azote protéique a diminué dans les plantules à la lumière comme à l'obscurité. Donc il semble que l'alcaloïde n'intervienne pas dans la protéogénèse. Par contre, nous avons observé un dégagement d'ammoniaque à la lumière, faible il est vrai, mais non négligeable, et que nous n'avons pu constater à l'obscurité (ni à la lumière avec des plantes sans alcaloïdes).

1-2. Voir tableau p. 162.

A. Guillaume

11

VARIATIONS DES ALCALOÏDES ET DE L'AZOTE PROTÉIQUE
PENDANT LA GERMINATION

1 ^o Graines Récolte 1918	Nombre pour 100 gr.	Poids sec de 100 graines	Teneur dans		
			100 gr.	100 graines	
			gr.	gr.	
	500	20	1,26	0,252	alcaloïdes
			7,20	1,44	az. prot.

2^o Plantules

a) à l'obscurité.

Hauteur moyenne	Nombre pour 100 gr.	Poids sec de 100 plantules	Teneur dans		
			100 graines	100 plant.	
			gr.	gr.	
II 0 m. 10	714	14	(1) 2,25	0,316	alcaloïdes
après 10 jours			(2) 6,42	0,900	azote prot.

b) à la lumière.

I 0 m. 05	833	12	(1) 1,624	0,1950	
après 6 jours			(2) 8,20	0,990	
II 0 m. 10	769	13	(1) 1,590	0,2072	
après 10 jours			(2) 7,84	1,020	
III 0 m. 15	588	17	(1) 1,828	0,3110	
après 15 jours			(2) 5,76	0,98	
IV 0 m. 20	501	21	(1) 2,074	0,4140	
après 20 jours			(2) 5,51	1,10	
en milieu non azoté (1)					

1. Nous avons constaté l'écartement des deux cotylédons et le développement de la gemmule.

Il semble donc y avoir, à la lumière, au début de la germination, passage par osmose d'une petite quantité des alcaloïdes contenus dans la graine, dans l'eau imbibant le support de coton, suivi d'une décomposition sous l'action des rayons solaires.

En résumé, si dans la plantule jeune à la lumière, la quantité d'alcaloïdes est moins élevée que dans la graine, par suite vraisemblablement d'une élimination d'une partie des alcaloïdes, suivie de décomposition, bientôt il doit s'en produire de nouveaux et la teneur dépassant celle de la graine, va en augmentant progressivement. Par contre, à l'obscurité, il doit se former très tôt de nouveaux alcaloïdes puisque la teneur est plus élevée que dans la graine. Ceux-ci à l'obscurité comme à la lumière se forment peut-être au cours de la protéolyse, puisque nous avons constaté une diminution des protéiques, mais notre expérience ne peut le prouver.

CONCLUSIONS DE NOS EXPÉRIENCES

Il résulte de nos expériences sur la biologie des alcaloïdes chez les lupins, que nous avons poursuivies de 1923 à 1929, les conclusions suivantes. Nous les exposons d'après le plan général établi au début de notre travail :

A. — *Variations dans les plantes adultes.*

1) **Au cours de la végétation dans des conditions moyennes.**

1. *Les variations dans les feuilles jeunes et dans les feuilles âgées* provenant d'un même pied nous ont montré que la teneur en alcaloïdes dans les premières était beaucoup plus élevée. D'autre part, l'étude des variations dans les feuilles jeunes, détachées de la tige ou séchées sur tige, a permis de constater qu'il continuait à se former des alcaloïdes dans ce dernier cas, les feuilles persistant à vivre pendant encore un certain temps de la vie de la plante.

2. *Dans les graines aux divers stades de la maturation*, c'est avant la maturité complète de la graine de lupin, quand celle-ci a atteint son volume définitif, qu'elle est la plus riche en alcaloïdes (rapportés à l'unité d'organe).

3. Les dosages d'alcaloïdes dans des *graines mûres de récoltes successives effectuées sur un même terrain*, nous ont montré que la teneur variait d'une année à l'autre, vraisemblablement suivant les conditions météorologiques.

4. *Variations de poids de récolte et de teneur en alcaloïdes au cours de la végétation normale de la plante* : il y a augmenta-

- tion des alcaloïdes dans une plante depuis la plantule jusqu'à la floraison, ensuite diminution progressive avec l'âge et concentration de ce qui reste dans les organes reproducteurs ; autrement dit, à partir de la floraison, migration des alcaloïdes (dont la teneur par pied diminue) de la partie végétative vers les organes reproducteurs.

La détermination de l'azote protéique dans les feuilles sèches nous a montré une diminution progressive depuis le début de la croissance jusqu'à la fin de la période de végétation.

5. *Les variations de teneur dans les différents organes du lupin après une dessiccation des plantes dans des conditions variées* (plantes stabilisées et non stabilisées ; dessiccation à l'étuve et à l'air libre) nous ont montré que les pertes les plus faibles en alcaloïdes, au cours de la dessiccation, correspondaient aux plantes stabilisées, par suite de l'absence d'action des ferments destructeurs. Pour les plantes non stabilisées, la dessiccation à l'étuve est supérieure à celle à l'air libre, elle atteint son meilleur rendement (minimum de pertes en alcaloïdes) aux environ de 70°.

2) Influence de divers facteurs extérieurs.

1. — Nutrition.

Variations avec les conditions de culture.

1. *Action des engrais* : nous avons constaté par des expériences effectuées au Jardin d'essai du Laboratoire de Biologie végétale de Fontainebleau que certains engrais et produits chimiques se comportaient différemment au point de vue des rendements en poids de récolte et des teneurs en alcaloïdes :
a) Tous provoquent une augmentation de récolte comparativement au témoin, surtout appréciable pour les engrais complets ;

b) Certains agissent de même sur l'augmentation de la teneur en alcaloïdes en valeur absolue et relativement au poids de récolte ;

c) D'autres n'augmentent pas la teneur en alcaloïdes en valeur absolue, mais donnent une proportion plus grande par pied, par suite du poids élevé de la récolte : exemple le carbonate de magnésium ;

d) Enfin, les sels de potassium augmentent les poids de récolte, mais agissent en sens inverse sur la teneur en alcaloïdes en valeur absolue et parfois même en valeur relative.

Dans d'autres expériences où nous avons fait agir le gaz carbonique comme engrais gazeux, dans des conditions spéciales, nous avons constaté une augmentation du poids de récolte, ce qui était à prévoir, mais non une élévation dans la teneur en alcaloïdes en valeur absolue ; l'augmentation par pied obtenue cependant est due à un poids supérieur de récolte. Nous avons observé également qu'il n'y avait pas de relation directe entre le développement de la plante (appareil végétatif) et l'augmentation de la teneur en alcaloïdes.

2. *Suppression de la nutrition azotée* : dans des expériences de culture en milieu azoté et en milieu non azoté, les différences constatées dans les teneurs en alcaloïdes par plantules sont trop faibles pour permettre de conclure que la plante « affamée d'azote » a utilisé ses alcaloïdes.

2. — Influence des facteurs météorologiques :

a) *Suivant l'éclairement* : expériences en pleine terre, à l'ombre d'une toile et au soleil : l'exposition au soleil favorise le rendement du lupin, augmente la teneur en alcaloïdes, particulièrement dans les feuilles, à la fois en valeur absolue et par rapport au poids de récolte.

b) *Culture par temps sec et par temps humide* : par contre, par année pluvieuse chez le lupin, la teneur en alcaloïdes baisse considérablement.

c) Des expériences comparatives de culture à l'obscurité et à la lumière ont montré une augmentation de teneur en alcaloïdes assez considérable à l'obscurité, accompagnée d'une diminution dans la teneur en azote protéique.

d) *Variations selon la provenance* : α) *suivant l'altitude* : nos cultures comparatives du lupin en montagne et en plaine nous ont montré que le pourcentage en alcaloïdes dans les feuilles augmentait sensiblement à mesure que l'on s'élevait, avec une diminution par pied à cause du faible rendement en feuilles. β) *suivant la latitude* : nos cultures sous climat chaud (Maroc) comparativement à celles de Fontainebleau nous ont donné une faible élévation de teneur en alcaloïdes dans les feuilles

B. — Variations pendant la germination des graines et la formation des plantules.

Nos expériences ont porté sur la germination des graines de lupin : 1. à l'obscurité : augmentation de la teneur en alcaloïdes dans 100 plantules par rapport à celle de 100 graines ; par contre diminution en azote protéique. 2. à la lumière : il y a lieu de tenir compte de l'âge des plantules : a) avec des plantules jeunes (jusqu'à 0 m. 10 de longueur, nous avons constaté une teneur alcaloïdique inférieure à celle de la graine ; b) dans les plantules plus développées, la proportion d'alcaloïdes devient supérieure à celle de la graine et va en augmentant progressivement.

Pourquoi cette perte en alcaloïdes au début de la germination à la lumière ? Nous l'attribuons à un passage dans l'eau de macération des graines, suivi de décomposition sous l'action des rayons solaires, avec production de petites quantités d'ammoniaque ainsi que nous avons pu le constater par des recherches et par des dosages. A l'obscurité (ou à la lumière avec des plantes non alcaloïdifères), ce dégagement ammoniacal n'a pas lieu.

La détermination de l'azote protéique dans les deux cas : obscurité, lumière, nous a montré une diminution par rapport à celui de la graine.

Ainsi, soit au moment de la germination des graines, soit pendant une période de la végétation normale de la plante, soit encore dans les plantules étiolées (à l'obscurité) nous avons constaté qu'à une augmentation de teneur en alcaloïdes par plantule ou par plante correspondait une diminution en matières protéiques, mais ce n'est qu'une simple constatation, car nous n'avons pu établir d'expérience directe pour montrer que les produits de dédoublement des matières protéiques se transformaient en alcaloïdes.

Dans notre travail, nous avons l'avantage d'avoir suivi sur une même plante en utilisant la même méthode de dosage, les variations de teneurs en alcaloïdes dans des conditions expérimentales nombreuses et variées, alors que l'ensemble des travaux parus jusqu'ici sur le même sujet a été effectué sur des plantes différentes (contenant par suite des alcaloïdes différents) et à l'aide de méthodes variées de dosage et d'interprétation.

TABLEAUX D'ANALYSES

relatifs aux recherches entreprises

(d'après le plan général).

I. — PLANTES ADULTES.

1^o *Végétation moyenne.*

	Pages
Détermination du coefficient expérimental.....	109
Vérification de la méthode.....	110
— Variations de teneur en alcaloïdes dans les feuilles jeunes et dans les feuilles âgées provenant d'un même pied	112
— Variations dans les feuilles jeunes détachées de la tige ou séchées sur la tige.....	115
— Variations de teneur en alcaloïdes pendant les 4 stades de maturation de la graine	116
— Variations dans les graines mûres de récoltes successives effectuées sur un même sol.....	117
— Variations de poids de récolte et de teneur en alcaloïdes dans les différents organes d'une même plante.....	120
— Variations de l'azote protéique dans les feuilles sèches....	122
— Variations pendant la dessiccation dans des conditions variées.....	125

2^o *Facteurs extérieurs.*

a) <i>Conditions de culture.</i> — Analyse du sol de Fontainebleau.	130
— Action des engrais sur les récoltes et la teneur en alcaloïdes.	133
— Action de l'acide carbonique.....	139
— Variations en milieu azoté et non azoté.....	144
b) <i>Conditions atmosphériques.</i> — Variations de poids de récolte et de teneur en alcaloïdes suivant l'éclairement.....	146
— Culture par temps sec et par temps humide.....	150
— Expériences comparatives à la lumière et à l'obscurité....	154
— Variations de provenance : changements d'altitude.....	156
— Changements de latitude.....	156

II. — GRAINE.

— Variations pendant la germination.....	162
--	-----

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

1. GORIS (A.). — Localisation et rôle des alcaloïdes et des glucosides chez les végétaux. Paris, 1914.
2. GUILLAUME (A.). — Sur la teneur en alcaloïdes des graines de quelques Légumineuses (genres *Lupinus* et *Lathyrus*). *Bull. Sc. Pharm.*, t. 30, p. 604-609, 1923.
— Le lupin : son importance en agriculture, sa composition chimique, ses usages. *Bull. Sc. Pharm.*, t. 31, p. 146-155, 1924.
3. ERRERA (L.). — Sur la distinction microchimique des alcaloïdes et des matières protéiques. *Ann. Soc. belge de Microsc.*, 13, 73, 1889. *Recueil Inst. bot. Errera*, 2, 189-227, 1906.
4. JAVILLIER (M.). — Sur les silicotungstates de conicine, de spartéine et d'atropine. *Bull. Sc. Pharm.*, 17, p. 315, 1910.
5. GUILLAUME (A.). — Applications de la méthode de Kjeldahl modifiée au dosage de l'azote dans quelques alcaloïdes. *Bull. Sc. Pharm.*, 34, p. 213, 1927.

ÉTUDE MICROCHIMIQUE.

6. AUDEMARD (A.). — Recherches sur la localisation des alcaloïdes dans les genêts. Th. Doct. Un. Pharm. Montpellier, 29, 1902.
7. JACQUEMIN (A.). — Sur la localisation des alcaloïdes dans les Légumineuses. *Ann. Soc. roy. des Sc. médicales et nat. de Bruxelles*, 14, 41-84, 2 pl. 1905. *Recueil Inst. bot. Errera*, 6, 257-297, 1906.
8. VAN DYCK. — Phytochemische onderzoekingen over alkaloiden in verband met het Kiemen. Projschrift. Utrecht, 1900.
9. RIPERT (J.). — Sur la variation et le rôle des alcaloïdes de la belladone. Th. Doct. Sciences. Paris, 1922.
10. GUÉRIN (P.). — Recherches sur la localisation de l'Anagyrine et de la Cytisine. Th. Pharm. Paris, 1895.

FORMATION.

11. PICTET (A.). — Quelques considérations sur la genèse des alcaloïdes dans la plante. *Arch. d. Soc. Sc. phys. et nat. de Genève* (4*), 19, 329-352, 1905.
12. CIAMICIAN (G.) et RAVENNA (C.). — Recherches sur la genèse des alcaloïdes dans les plantes. *Ann. de Chim. et Phys.* (8 s.), 25, 404-421, 1912.
13. WINTERSTEIN et TRIER. — Die alkaloïde. Berlin, 1910.
14. PARIS (G.). — Etude et recherches sur la biochimie du tabac, extrait de *Botanical abstracts Staz. sper agron. ital.*, 53, 1920.
15. WEWERS (TH.). — Die Funktion des Koffeins instoppwechsel der Pflauren. Rapport à l'assemblée générale de la Fédération Internationale pharmaceutique. La Haye, sept. 1927.
— Die Funktion des Koffeins in stoppwechsel von Ilex Paraguaiensis St. Hil. *Procudings*, 32, n° 3, 1929.
16. WEWERS (TH.) et OORT (H. D. VAN). — Die Funktion der Alkaloïde in den Blättern von Cinchona succirubra Pavon *Procudings*, 32, n° 3, 1929.
17. DUNSTAN. — *Pharm. Journ. and Trans.*, 18, 716, 1887.
18. ROBINSON (R.). — *Journ. ch. soc.*, III, 1917.
19. POLONOWSKI (M.). — Mode de formation et rôle des alcaloïdes dans la plante. *Bull. Soc. chimique de France*, 35, 1365-1403, 1924.

A. — Migration dans les plantes adultes.

1) Pendant la végétation normale :

20. LAURENT. — Etudes sur les migrations chimiques que peut apporter la greffe dans la constitution des plantes. Th. Doct. Sc. Paris, 1908.
21. KELLNER (O.) MAKINO (K.) et OGATAWARA (K.). — Die Zutammensetzung der Theablätter in verschiedenem vegetation studien. *Die Landwirthsch. versuchsstationem* 33, 370, 1886-1887.
22. WEWERS (TH.) et M^e WEWERS DE GRAAF. — Untersuchungen über einige Xanthin-Derivate in Beziehung zum stoppwechsel der Pfläuren-Konigt-Akad. v. Wetenschapfente Amsterdam 203, 1903
23. CHUARD et MELLET. — Variation de la proportion de nicotine dans les divers organes de la plante du tabac au cours de la végétation. *C. R. Ac. sc.* 155, 293, 1912.

24. CLAUTRIAU. — L'azote dans les capsules de pavot. *Recueil Inst. bot. Errera* 2, 253-265, 1906.
25. CHEVALIER (J.). — Variations de la teneur en spartéine du genêt à balais suivant l'époque de la végétation. *C. R. Ac. Sc.* 150, 1069-1071, 1910.
26. FELDHAUSS. — Quantitative Untersuchung über die verteilung des alkaloides in den organen von *Datura Stramonium* L. *Arch. d. Pharm.* 243 328-348, 1905.
- 2) *Sous l'influence de divers facteurs extérieurs.*
27. CHEVALIER (J.). — Influence de la culture sur la teneur en alcaloïdes de quelques solanées. *C. R. Ac. Sc.* 150, 344-346, 1910.
28. RANSON (F.) et HENDERSON (J.). — The effect of cultivation and fertilisers on the growths of the plant and its alkaloidal content. *The chemist and Druggist*, 81, 432-434 : 443-445, 1912.
29. MAURIN. — Quelques essais de culture du « *Datura stramonium* ». Variations de sa richesse alcaloïdique sous l'influence de certains engrais chimiques. *Bull. Sc. pharm.*, t. 32, p. 75, 1925.
30. GORIS (A.) et MÉTIN. — Variations de la teneur en alcaloïdes dans les racines d'aconit. *Bull. Sc. Pharm.*, t. 31, p. 330-335, 1924.
- MÉTIN (M.). — Les variations de la teneur alcaloïdique de l'aconitum napellus. *Bull. Sc. pharm.*, t. 33, p. 197-202, 1926.
31. BEAUSITE. (F.). — Etude sur la teneur alcaloïdique de la Belladone cultivée. Th. Doctorat Univers (Pharm.) Paris, 1919.
32. GORIS (A.) et DELUARD (H.). — Etude de l'influence des radiations solaires sur la culture de la Belladone et la formation des alcaloïdes dans les feuilles. *Bull. Sc. Pharm.*, t. 29, p. 74, 1922.
33. GUILLAUME (A.). — Variations dans la teneur en alcaloïdes chez le lupin sous l'influence de l'alimentation. *C. R. Ac. Sc.* 26 mars 1928. Influence de certains engrais et agents chimiques sur le poids des récoltes et la teneur en alcaloïdes dans la culture d'une légumineuse : le lupin, *Bull. Sc. Pharm.*, 35, p. 347 et 495, 1928.
- 33¹. VREVEN et SCHREIBER. — De l'influence des éléments nutritifs essentiels sur la croissance et sur la teneur en alcaloïdes totaux de l'*Atropa Belladonna*. *Ann. de Pharm.*, Ranwez, 17, p. 97, 1911.

332. STENHOUSE. — Nachere Untersuchung über spartium scoparium. *Ann. der an. u. Pharm.*, 78, p. 15, 1851.
34. CLAUTRIAU. — Nature et signification des alcaloïdes végétaux. *Recueil Inst. bot. Errera*, 5, 187, 1902.
35. LOTSY. — De localisatie van het alcaloïd in cinchona Calisay. *Led. in C. succirubra*. Batavia, 1898.
36. TUNMANN (O.) et JENZER. — Pharmakognostische Untersuchum. gen über Pilocarpus pennatifolius Lund Erythroxyton Coca Lam. mit besonderer Berücksichtigung ihrer alkaloïde, 1910.
37. LUTZ (L.). — Sur l'emploi de substances organiques comme source d'azote par les végétaux vasculaires et cellulaires (Résumé). *Bull. Soc. bot. de France* (4^e série), 5, 194-202, 1905.
38. PERROT (E.) et GORIS (A.). — La stérilisation des plantes médicinales dans ses rapports avec leur activité thérapeutique. C. R. Ac. de Méd. Paris, 22 juin 1909 et *Bull. Sc. Pharm.*, 16, p. 380-390, 1909.
- GORIS (A.). — La stabilisation des végétaux : ses conséquences, son avenir. *Presse médicale*, n° 54, 12 juillet 1913.
39. MESTAPA. — Sur la diminution de la teneur des plantes en alcaloïdes pendant la dessiccation : extrait de *Pharmacia*, VI, p. 226, 1926.
40. DHERS (V.). — Influence de la stabilisation sur le genêt et le tabac pris comme type de plantes à alcaloïdes volatils. *Bull. Sc. Pharm.*, 29, 154-156, 1922.
41. VARCHOVICI (H.). — Contribution à l'étude de quelques produits galéniques préparés avec des plantes stabilisées, dosage de leurs principes actifs. Th. Doct. Pharm. Université de Jassy, 1927.
42. JONESCO-MATIU (AL.) et VARCHOVICI (H.). — Contribution à l'étude du dosage des alcaloïdes par la méthode mercurimétrique. *Bull. Soc. chimique*, 15 mai 1928.
43. GUILLAUME (A.). — Des pertes en alcaloïdes au cours de la dessiccation des plantes dans des conditions variées. C. R. Ac. Sc., t. 189, 706, 1929.

B. — Migration pendant la greffe.

44. GUIGNARD (L.). — Recherches physiologiques sur la greffe des plantes à acide cyanhydrique. *Ann. Sc. nat. Bot.*, 16, 261-305, 1907.
45. LAURENT (CH.). — Etude sur les modifications chimiques que peut

amener la greffe dans la constitution des plantes. Th. Doct. Sc. Paris, 1908.

46. JAVILLIER (M.). — Sur la migration des alcaloïdes dans les greffes de solanées sur solanées. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 24, 569-576, 1910.

C. — *Migration pendant la germination.*

47. HECKEL (ED.). — Sur l'utilisation et la transformation de quelques alcaloïdes dans la graine pendant la germination. C. R. Ac. Sc., 110, 88-90, 1890.
48. CLAUTRIAU (G.). — Localisation et signification des alcaloïdes dans quelques graines. *Recueil Inst. bot. Errera*, 2, 265-280, 1906.
49. TUNMANN (O.). — Ueber die alkaloïde in strychnos nux-vomica L. Während der Keimung. *Arch. d. Pharm.*, 248, 644-657, 1910.

Rôle des alcaloïdes.

50. ERRERA (L.). — Un ordre de recherches trop négligé : L'efficacité des structures défensives des plantes. *Bull. Soc. roy. de bot. de Belgique*, 25, 86-104, 1886.
51. COMBES (R.). — La vie de la cellule végétale ; les enclaves de la matière vivante. Paris, 1929.
52. CIAMICIAN (G.) et RAVENNA (C.). — Sur la signification biologique des alcaloïdes chez les plantes, traduit librement par R. Cerighelli. *Bull. Soc. chim. biol.*, t. V, p. 59, 1923.
53. MOLLIARD (M.). — Nutrition de la plante : cycle de l'azote. Paris, p. 272-290, 1925.
54. GUILLAUME (A.). — Les intoxications provoquées par les gesses. *Bull. Sc. Pharm*, 36, p. 226-293, 1929.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté.

Les poissons venimeux.

Les composés polypyrrroliques d'origine végétale.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLÉTY

Vu et approuvé :
Paris, le 10 décembre 1929.
Le Doyen de la Faculté des Sciences
CH. MAURAIN

